



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ ΣΠΟΥΔΩΝ

ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΕ ΣΥΜΠΡΑΞΗ ΜΕ ΤΟ Τ.Ε.Ι. ΗΠΕΙΡΟΥ

Μικροβιολογική μελέτη για την ολική μεσόφιλη χλωρίδα, τα ψυχρόφιλα βακτήρια, τα *Enterobacteriaceae*, τον *Staphylococcus aureus*, τη *Salmonella spp* & τη *Listeria monocytogenes* στα καλλιεργούμενα είδη τσιπούρας και λαυρακιού στα σημεία διάθεσης της ευρύτερης αγοράς του νομού Αχαΐας.

Περικλής Β. Ζώτος

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

1. Α. Γκόβαρης, Αναπληρωτής Καθηγητής, Επιβλέπων, Εργαστήριο Υγιεινής των Τροφίμων Ζωικής Προέλευσης, Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.
2. Φ. Αθανασοπούλου, Καθηγήτρια, Μέλος Συμβουλευτικής Επιτροπής, Εργαστήριο Ιχθυοπαθολογίας, Ιχθυολογίας & Υδ/γειών, Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.
3. Ν. Σολωμάκος, Λέκτορας, Μέλος Συμβουλευτικής Επιτροπής, Εργαστήριο Υγιεινής των Τροφίμων Ζωϊκής Προέλευσης, Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

ΚΑΡΔΙΤΣΑ 2010



UNIVERSITY OF THESSALY

SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

FACULTY OF VETERINARY MEDICINE

A THESIS SUBMITTED FOR THE DEGREE MASTER OF PHILOSOPHY,
POSTGRADUATE PROGRAM ORGANIZED BY FACULTY OF VETERINARY
MEDICINE WITH THE COORDINATION WITH T.E.I. OF EPIRUS

Study of total viable count, psychrotrophic bacteria, *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp* & *Listeria monocytogenes* of cultured species of *Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax* in fish markets of Achaia prefecture.

Periklis V. Zotos

ADVISOR COMMITTEE

1. A. Govaris, Associate Professor, Supervisor, Laboratory of Hygiene of Foods of Animal Origin, Faculty of Veterinary Medicine, University of Thessaly.
2. F. Athanassopoulou, Professor, Member of advisor committee, Laboratory of Fish Pathology, Ichthyology & Aquaculture, Faculty of Veterinary Medicine, University of Thessaly.
3. N. Solomakos, Lecturer, Member of advisor committee, Laboratory of Hygiene of Foods of Animal Origin, Faculty of Veterinary Medicine, University of Thessaly.

KARDITSA 2010

Στη σύζυγό μου Κατερίνα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Βασικός στόχος της εργασίας αυτής ήταν να εξεταστεί η υγιεινή κατάσταση στα καλλιεργούμενα είδη τσιπούρας και λαυρακιού τα οποία πωλούνται στα ιχθυοπωλεία του Νομού Αχαΐας όσον αφορά την ολική μεσόφιλη χλωρίδα, τους ψυχρόφιλους μικροοργανισμούς, τα *Enterobacteriaceae*, τον *Staphylococcus aureus*, τη *Salmonella spp* και τη *Listeria monocytogenes*.

Για το σκοπό αυτό εξετάστηκαν εικοσιπέντε (25) τσιπούρες και εικοσιπέντε (25) λαυράκια. Τα δείγματα προέρχονταν από καταστήματα πώλησης της Πάτρας, του Αιγίου, των Καλαβρύτων και της Κάτω Αχαΐας. Οι εργαστηριακές εξετάσεις βασίστηκαν αποκλειστικά στις αντίστοιχες ISO και το εργαστηριακό μέρος πραγματοποιήθηκε στο Κτηνιατρικό Εργαστήριο Πατρών.

Οι πληθυσμοί της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας σε όλα τα δείγματα τσιπούρας και λαυρακιού κυμάνθηκαν από 3×10^2 cfu/g έως 6×10^2 cfu/g με μέσο όρο $4,48 \pm 1,08 \times 10^2$ και $4,28 \pm 0,936 \times 10^2$ cfu/g αντίστοιχα. Στους ψυχρόφιλους μικροοργανισμούς οι πληθυσμοί στα δείγματα τσιπούρας κυμάνθηκαν από 4×10^3 cfu/g έως 7×10^3 cfu/g με μέσο όρο $5,48 \pm 0,714 \times 10^3$ cfu/g, ενώ για τα δείγματα λαυρακιού ήταν πιο αυξημένοι και συγκεκριμένα κυμάνθηκαν από $2,8 \times 10^4$ cfu/g έως $3,2 \times 10^4$ cfu/g με μέσο όρο $3,04 \pm 1,003 \times 10^4$ cfu/g. Όσον αφορά τα εντεροβακτηριοειδή στα δείγματα τσιπούρας ανιχνεύτηκαν στο 56% των δειγμάτων και οι πληθυσμοί στα δείγματα που ανιχνεύτηκαν κυμάνθηκαν από 3×10^2 cfu/g έως $1,4 \times 10^3$ cfu/g με μέσο όρο $5,57 \pm 2,97 \times 10^2$ cfu/g. Στα λαυράκια ανιχνεύτηκαν εντεροβακτηριοειδή στο 64% των δειγμάτων και οι πληθυσμοί στα δείγματα που ανιχνεύτηκαν κυμάνθηκαν από 4×10^2 cfu/g έως $1,3 \times 10^3$ cfu/g με μέσο όρο $8,25 \pm 3,35 \times 10^2$ cfu/g. *S. aureus*, *Salmonella spp* και *Listeria monocytogenes* δεν ανιχνεύθηκαν σε κανένα από τα 25 δείγματα τσιπούρας και 25 δείγματα λαυρακιού από την περιοχή της Αχαΐας που εξετάστηκαν.

ABSTRACT

Aim of this study was to examine the hygienic condition on cultivated species of *Sparus aurata* & *Dicentrarchus labrax* in fish markets of Achaia prefecture, in order to assess total viable count, psychrotrophic bacteria, *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp* & *Listeria monocytogenes*.

For this purpose 25 sea bream and 25 sea bass were examined. The samples were purchased from fish markets of the cities of Patras, Egion, Kalavryta and Kato Achaia. The laboratory examinations were based exclusively on ISO methods and the laboratory part has been performed in the Veterinary Laboratory of Patras.

The total viable count micropopulation in all sea bream and sea bass samples was from 3×10^2 to 6×10^2 cfu/g with average $4,48 \pm 1,08 \times 10^2$ and $4,28 \pm 0,936 \times 10^2$ cfu/g respectively. In psychrotrophic bacteria the micropopulation in sea bream samples was from 4×10^3 cfu/g to 7×10^3 cfu/g with average $5,48 \pm 0,714 \times 10^3$ cfu/g while in sea bass samples was increased from $2,8 \times 10^4$ cfu/g to $3,2 \times 10^4$ cfu/g with average $3,04 \pm 1,003 \times 10^4$ cfu/g. In regard *Enterobacteriaceae* in sea bream samples were detected in 56% of them and the micropopulation was from 3×10^2 cfu/g to $1,4 \times 10^3$ cfu/g with average $5,57 \pm 2,97 \times 10^2$ cfu/g. In sea bass *Enterobacteriaceae* were detected in 64% of the samples and the micropopulation was from 4×10^2 cfu/g to $1,3 \times 10^3$ cfu/g with average $8,25 \pm 3,35 \times 10^2$ cfu/g. *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp* & *Listeria monocytogenes* were not detected in any of the 25 sea bream samples and 25 sea bass samples examined from Achaia prefecture.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή εκπονήθηκε στα πλαίσια του μεταπτυχιακού προγράμματος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας με τίτλο "ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΑ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΥΔΡΟΒΙΩΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ" κατά την περίοδο 2008 – 2010.

Ιδιαίτέρως θα ήθελα να ευχαριστήσω:

- Τον κο Αλέξανδρο Γκόβαρη, Αναπληρωτή Καθηγητή του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας επιβλέποντα καθηγητή της εργασίας μου, για την καθοδήγηση και την βοήθειά του κατά την πραγματοποίηση της παρούσας διπλωματικής εργασίας,
- Την κα Φωτεινή Αθανασοπούλου, Καθηγήτρια του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, για την βοήθειά της καθ'όλη τη διάρκεια του μεταπτυχιακού προγράμματος και για τη συμβολή της ως μέλος της τριμελούς επιτροπής,
- Τον κο Νίκο Σολωμάκο, Λέκτορα του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, για την βοήθειά του στην ανάλυση των αποτελεσμάτων και γενικότερα για την βοήθειά του στην συγγραφή της εργασίας,
- Την κα Κλυταιμνήστρα Βελετά, προϊσταμένη του Κτηνιατρικού Εργαστηρίου Πατρών, για την βοήθειά της κατά την διάρκεια των εργαστηριακών ελέγχων καθώς και για την δωρεά παροχή της υλικοτεχνικής υποδομής του εργαστηρίου τροφίμων για την πραγματοποίηση των αναλύσεων.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο - ΓΕΝΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

1.1	Εισαγωγή	σελίδα 10
1.2	Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα	σελίδα 16
1.3	Ψυχρότροφοι Μικροοργανισμοί	σελίδα 17
1.4	Εντεροβακτηριοειδή (Enterobacteriaceae)	σελίδα 18
1.5	Χρυσίζων Σταφυλόκοκκος (<i>Staphylococcus aureus</i>)	σελίδα 19
1.6	Σαλμονέλα (<i>salmonella spp</i>)	σελίδα 22
1.7	Λιστέρια (<i>Listeria monocytogenes</i>)	σελίδα 26

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο - ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ – ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ

2.A	Εγκαταστάσεις & όργανα που χρησιμοποιήθηκαν	σελίδα 32
2.B	Υλικά & Μέθοδοι	σελίδα 35
2.B.1	Οριζόντια μέθοδος για την απαρίθμηση της Ο.Μ.Χ.	σελίδα 36
2.B.2	Οριζόντια μέθοδος για την απαρίθμηση των Ψυχρότροφων Μικροοργανισμών	σελίδα 37
2.B.3	Οριζόντια μέθοδος για την ανίχνευση & την απαρίθμηση των Εντεροβακτηριοειδών	σελίδα 38
2.B.4	Οριζόντια μέθοδος για την ανίχνευση της <i>Listeria monocytogenes</i>	σελίδα 41
2.B.5	Οριζόντια μέθοδος για την ανίχνευση της <i>Salmonella spp</i>	σελίδα 43

2.B.6 Οριζόντια μέθοδος για την ανίχνευση & την απαρίθμηση του

Staphylococcus aureus (Σταφυλόκοκκων Θετικών σε

Κοαγουλάση

σελίδα 47

**ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο - ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΩΝ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ -
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**

3.1 Αποτελέσματα & Συζήτηση σελίδα 50

3.1.1. Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα σελίδα 50

3.1.2. Ψυχρόφιλα βακτήρια σελίδα 53

3.1.3. *Enterobacteriaceae* σελίδα 56

3.1.4. *Staphylococcus aureus* σελίδα 59

3.1.5 *Salmonella spp* σελίδα 62

3.1.6. *Listeria monocytogenes* σελίδα 67

3.2 Συμπεράσματα σελίδα 70

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ σελίδα 72

ΚΕΦΑΛΑΙΟ
ΠΡΩΤΟ
ΓΕΝΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

1.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η διαρκής αύξηση του πληθυσμού σε παγκόσμιο επίπεδο κατέστησε επιτακτική την ανάγκη για αύξηση της παραγωγής και διάθεσης τροφής. Ο 19^{ος} αιώνας χαρακτηρίστηκε από σημαντική ανάπτυξη της επιστήμης και της τεχνολογίας με αποτέλεσμα την αναβάθμιση της ποσότητας και της ποιότητας των αγαθών. Σύμφωνα με τους Archer and Young (1988), έχει πλέον αποδειχθεί ότι τα τρόφιμα είναι δυνατόν να αποτελέσουν το μέσο μετάδοσης παθογόνων μικροοργανισμών στον άνθρωπο, που παλιότερα υπήρχε η πεποίθηση ότι προκαλούσαν λοίμωξη με άλλους τρόπους και πολλοί από τους αιτιολογικούς παράγοντες καινούργιων ασθενειών σχετίζονται άμεσα με την κατανάλωση συγκεκριμένων τροφίμων. Παθογόνοι μικροοργανισμοί γνωστοί από χρόνια, εμφανίζονται τώρα σε τρόφιμα στα οποία η επιβίωσή τους θεωρούνταν αδύνατη και έχει αποδειχθεί ότι ορισμένα στελέχη τους είναι πολύ πιο ανθεκτικά από ότι αναμένονταν στις συνηθισμένες τεχνικές επεξεργασίας και συντήρησης, όπως η *Escherichia coli* O157:H7 (Παπαναστασίου 1990). Σήμερα, οι αλλαγές είναι ραγδαίες αφού ο πληθυσμός της γης, το περιβάλλον και τα τρόφιμα υφίστανται συνεχείς μεταβολές, οι οποίες όμως σε καμία περίπτωση δεν θα πρέπει να αποβαίνουν σε βάρος της υγείας του ανθρώπου.

Τα τροφιμογενή νοσήματα και η ασφάλεια των τροφίμων βρίσκονται στο επίκεντρο τόσο της επιστημονικής έρευνας όσο και της κοινής γνώμης, η οποία ευαισθητοποιείται ολοένα και περισσότερο τόσο από τα μέσα μαζικής ενημέρωσης σε σχέση με την υγιεινή διατροφή και την ασφάλεια των τροφίμων, όσο από τη σύγχρονη τάση των καταναλωτών για βιολογικά ή με λιγότερα χημικά πρόσθετα τρόφιμα (Αλεξανδρόπουλος 1993).

Με τον όρο αλιεύματα χαρακτηρίζονται όλοι οι υδρόβιοι ζωικοί οργανισμοί που χρησιμοποιεί ο άνθρωπος για τη διατροφή του, τη διατροφή των αγροτικών ζώων ή και άλλες ακόμα χρήσεις (Παπαναστασίου 1990). Αποτελούν μία από τις κύριες πηγές από τις οποίες ο άνθρωπος αντλεί τις απαραίτητες για την επιβίωσή του τροφές. Τα αλιεύματα καταλαμβάνουν μια ξεχωριστή θέση στη δίαιτα του ανθρώπου, ιδιαίτερα των κατοίκων των χωρών με πολλά χιλιόμετρα ακτών όπως είναι η Ελλάδα. Η υψηλή βιολογική αξία, η αυξημένη περιεκτικότητα σε ανόργανα άλατα και βιταμίνες, η μεγάλη πεπτικότητα και οι άριστες οργανοληπτικές ιδιότητες

αποτελούν τα βασικά χαρακτηριστικά τους (Παπαναστασίου 1990). Επιπλέον, σύμφωνα με τα σύγχρονα ιατρικά δεδομένα συνιστάται η κατανάλωση ψαριών στα πλαίσια της μεσογειακής διατροφής, η οποία είναι ευρέως αποδεκτό ότι μπορεί να συμβάλλει στην πρόληψη διάφορων ασθενειών του ανθρώπου. Στο σύνολο της παγκόσμιας παραγωγής πρωτεϊνών ζωικής προέλευσης, τα αλιεύματα καλύπτουν ποσοστό 12,2%, έναντι 43,4% του γάλακτος, 34,6% του κρέατος των θηλαστικών, 1,4% των αυγών και 1% του κρέατος των πουλερικών (Παπαναστασίου 1990). Τα 2/3 της παγκόσμιας παραγωγής κρέατος και γάλακτος καταναλώνονται από 700 εκατομμύρια ανθρώπους, ενώ περισσότεροι από 1.5 δισεκατομμύριο άνθρωποι καλύπτουν το 50% της ημερήσιας ανάγκης τους σε ζωικές πρωτεΐνες από την κατανάλωση αλιευμάτων (Βαρελτζής 1999). Η μέση ημερήσια κατανάλωση πρωτεϊνών αλιευμάτων σε ολόκληρο τον κόσμο ανέρχεται σε περίπου 2,3 g ανά κάτοικο και είναι υψηλή στην Ευρώπη και στις Η.Π.Α., ενώ στον υπόλοιπο κόσμο κυμαίνεται σε χαμηλά επίπεδα. Η κατά κεφαλήν ετήσια κατανάλωση αλιευμάτων στην Ελλάδα ανέρχεται περίπου στα 25 kg (FAO 2005). Η συνεχώς αυξανόμενη ζήτηση των αλιευμάτων οδήγησε στην ανάπτυξη των υδατοκαλλιεργειών με την προσδοκία της κάλυψης των αναγκών, αλλά και τον αυστηρότερο έλεγχο της ποιότητας των ψαριών που φθάνουν στο τραπέζι του καταναλωτή.

Ο τομέας των υδατοκαλλιεργειών χαρακτηρίζεται ως «γαλάζια επανάσταση», καθώς αποτελεί τον ταχύτερα αναπτυσσόμενο κλάδο παραγωγής τροφίμων σε παγκόσμιο επίπεδο (Bardach et al 1973). Η ανάπτυξη των υδατοκαλλιεργειών είναι ραγδαία σε παγκόσμια κλίμακα κατά το τελευταίο ήμισυ του εικοστού αιώνα. Με συνολική παραγωγή ύψους 52 εκατομμυρίων τόνων για το 2006, οι υδατοκαλλιέργειες προβάλουν ως σημαντική λύση για την αναπλήρωση του κενού που δημιουργείται σε ψάρια, λόγω της υπεραλίευσης (ΣΕΘ 2009). Ο κύκλος εργασιών ετησίως υπερβαίνει τα 50 δισ. ευρώ και αναπτύσσεται την τελευταία δεκαετία με ρυθμούς αύξησης της τάξεως του 10%. Στις Η.Π.Α. ήδη το 50% της κατανάλωσης φρέσκων και κατεψυγμένων θαλάσσιων προϊόντων προέρχεται από καλλιέργειες και αρκετοί είναι αυτοί που εκτιμούν ότι το 2030 η ιχθυοκαλλιέργεια θα καλύπτει το μεγαλύτερο κομμάτι της κατανάλωσης ψαριών σε παγκόσμιο επίπεδο. Ο τομέας των ιχθυοκαλλιεργειών αποτελεί για τη χώρα μας σημαντικό τομέα της πρωτογενούς παραγωγής με οικονομικές και κοινωνικές διαστάσεις. Είναι αδιαμφισβήτητο γεγονός ότι οι μονάδες παραγωγής ευρύαλων

ιχθύων στη χώρα μας, κυρίως τσιπούρας και λαυρακιού, κατέχουν εξέχουσα θέση ανάμεσα στις χώρες της Ευρώπης.

Η τσιπούρα (*Sparus aurata*, Linnaeus 1758) ανήκει στην Οικογένεια των *Sparidae*. Είναι είδος που ζεί σε μικρά κοπάδια στα ρηχά νερά (Campbell 1982).

Το λαυράκι (*Dicentrarchus labrax*, Linnaeus 1758) ανήκει στην οικογένεια των *Moronidae*. Το χρώμα του είναι ασημί πλευρικά που τείνει να γκριζαίνει προς τη ράχη του, και να ασπρίζει προς την κοιλιά του (φαινόμενο της αντισκίασης). Σε μικρή ηλικία έχει κάποια σκούρα σημάδια ή κηλίδες στη μεριά της ράχης, οι οποίες φεύγουν όσο μεγαλώνει (Campbell 1982).

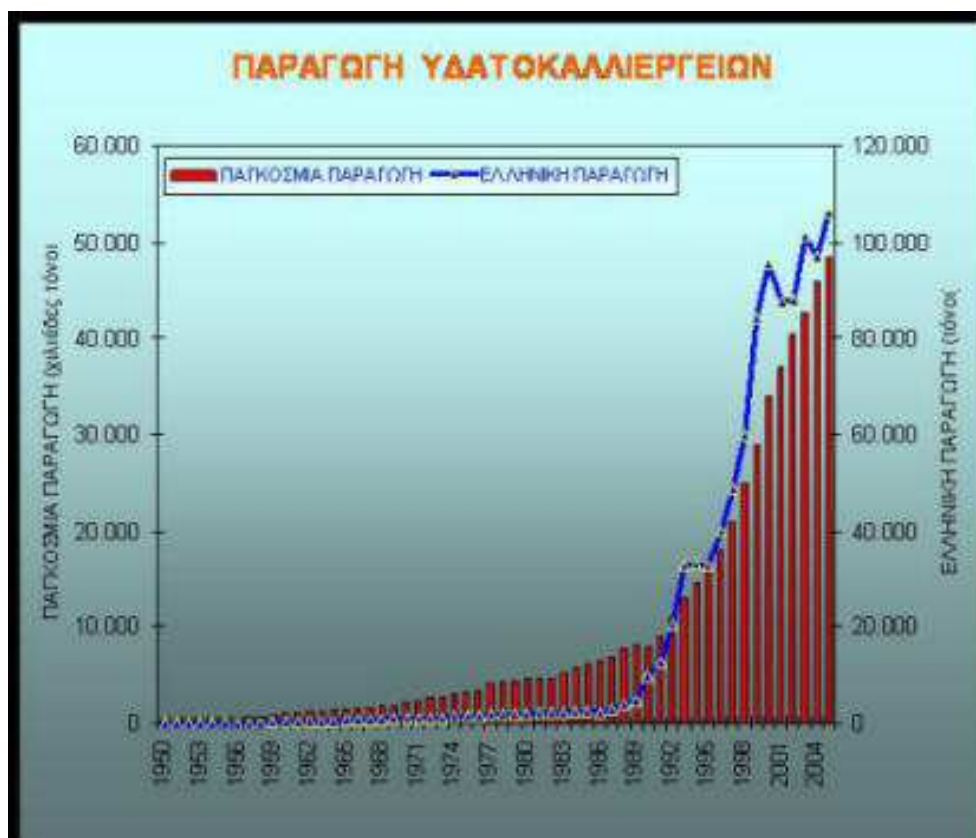
Η ανάπτυξη των ιχθυοκαλλιεργειών γίνεται με ταχείς ρυθμούς και ειδικότερα για τα είδη της τσιπούρας και του λαυρακιού οι ρυθμοί είναι ιδιαίτερα εντυπωσιακοί. Αν και η εκτροφή υδρόβιων ζώων έχει παρουσία στην Ελλάδα από την αρχαιότητα, τα κύρια εκτρεφόμενα είδη που συνθέτουν αυτόν τον τομέα σήμερα, είναι η τσιπούρα και το λαυράκι. Η ανάπτυξη της καλλιέργειας τσιπούρας και του λαυρακιού ουσιαστικά στη χώρα μας ξεκίνησε πριν από 30 χρόνια περίπου. Στις αρχές της δεκαετίας του '80 λειτούργησαν τρεις μονάδες πάχυνσης σε ιχθυοκλωβούς, ενώ στα τέλη της δεκαετίας λειτουργούσαν τριάντα (Φώτης 1999). Η αλματώδης εξέλιξη του κλάδου στην Ελλάδα έρχεται το 2001, που έφτασε να λειτουργούν 290 μονάδες με παραγωγή 61.000 τόνους τσιπούρας και λαυρακιού και 41 ιχθυογεννητικοί σταθμοί με παραγωγή 240 εκατομμυρίων τεμαχίων γόνου των δύο ψαριών (Europarlament 2002).

Η Ελλάδα από το 2002 κατέχει πλέον την πρώτη θέση στην Ευρώπη, σε σχέση με την εντατική μορφή καλλιέργειας τσιπούρας και λαυρακιού.

Η Ελλάδα διαθέτει τον κατάλληλο συνδυασμό για την ανάπτυξή τους, αφού υπάρχουν 4.000 χιλιόμετρα ακτογραμμής γύρω από την ηπειρωτική χώρα, συν επιπλέον 11.000 χιλιόμετρα γύρω από τα ελληνικά νησιά, άριστες κλιματικές συνθήκες, άριστες υδροβιολογικές συνθήκες και δυνατότητα χρηματοδότησης από την Ε.Ε. και το Ελληνικό κράτος.

Σύμφωνα με πρόσφατα στοιχεία το 2008 στην χώρα μας η παραγωγή τσιπούρας έφτασε τους 77.000 τόνους και η παραγωγή λαυρακιού τους 52.000

τόνους (ΣΕΘ 2009). Από το σύνολο της ελληνικής παραγωγής, το 70% των ψαριών εξάγεται, ενώ μόλις το 30% καταναλώνεται στην εγχώρια αγορά. Η κατά κεφαλή κατανάλωση τσιπούρας και λαυρακιού στην χώρα μας είναι περίπου 2,1 kg και η προβλεπόμενη τάση είναι αργή ανάπτυξη στα επόμενα χρόνια (Stirling Report 2004).



Γράφημα 1. Παραγωγή υδατοκαλλιεργειών (ΕΣΥΕ 2004).

Η ανάπτυξη αυτού του κλάδου εκτός από την προσδοκία της κάλυψης των αναγκών δημιούργησε και την πεποίθηση ότι μέσω της αυστηρά ελεγχόμενης παραγωγής τα ψάρια που φθάνουν στο τραπέζι των καταναλωτών θα ήταν προϊόντα υψηλής διατροφικής αξίας και υγιεινής. Αποτελεί αδιαμφισβήτητο γεγονός ότι ένας από τους βασικούς παράγοντες που συμβάλλει στη βελτίωση της πρωτογενούς παραγωγής και των προϊόντων της αλιείας και των ιχθυοκαλλιεργειών είναι η καθιέρωση της τυποποίησης και του ποιοτικού ελέγχου των αλιευμάτων με τη χρήση των συστημάτων της ολικής διαχείρισης της ποιότητας και ασφάλειας των προϊόντων. Στο πλαίσιο της εφαρμογής της ολικής

διαχείρισης της ποιότητας στον ευρύ τομέα των τροφίμων (από την Πρωτογενή παραγωγή, μέσω της Βιομηχανίας Μεταποίησης και των Σημείων συσκευασίας, διανομής και πώλησης μέχρι το πιάτο του καταναλωτή) και άρα λοιπόν και στις ιχθυοκαλλιέργειες βρίσκεται η εγκατάσταση και η εφαρμογή τους σύμφωνα με το Πρότυπο 9000 και του συστήματος Ανάλυσης Επικινδυνότητας Κρισίμων Σημείων Ελέγχου (Hazard Analysis of Critical Control Points, H.A.C.C.P.) (Αρβανιτογιάννης και συν 2001).

Περισσότερο από κάθε άλλο ζωικό προϊόν το ψάρι προσφέρει τη μέγιστη θρεπτική, γευστική και βιολογική αξία του όταν είναι νωπό. Ως νωπά θεωρούνται τα ψάρια που διατίθεται στην κατανάλωση ευθύς αμέσως μετά την αλιεία τους ή συσκευασμένα μέσα σε τριμμένο πάγο σε αναλογία βάρους 2 προς 1 (Ελευθεριάδου 2004). Ο χρόνος που μπορεί να διατηρηθεί φρέσκο το ψάρι εξαρτάται από το χειρισμό του, το περιβάλλον που αλιεύτηκε, την εποχή, τον τρόπο αλίευσης και κυρίως από τη συνεχή και σταθερή συντήρηση του κάτω από κατάλληλες συνθήκες ψύξης, μέχρι και την παράδοση του στην κατανάλωση σε χρονικό διάστημα το οποίο δεν μπορεί να υπερβαίνει τις δύο ημέρες περίπου (Ελευθεριάδου 2004).

Τα ψάρια είναι πολύ ευπαθή τρόφιμα με δυνατότητα συντήρησης για περιορισμένο χρόνο. Η ευπάθεια των ψαριών οφείλεται στους παρακάτω λόγους (Ελευθεριάδου 2004):

- Λόγω έλλειψης υδατανθράκων (έως 0,5%) στη σάρκα των ψαριών ευνοείται η ανάπτυξη μικροοργανισμών.
- Το δέρμα των ψαριών παραμένει με τους μικροοργανισμούς που υπάρχουν σε αυτό δημιουργώντας ευνοϊκές συνθήκες για την ανάπτυξη των τελευταίων λόγω της παρουσίας υγρασίας.
- Δεν γίνεται εκσπλαχνισμός, εκτός από τους πολύ μεγάλους μεγέθους ιχθύες, με αποτέλεσμα τα βακτήρια του πεπτικού σωλήνα να μπορούν να αναπτυχθούν σε ευνοϊκές συνθήκες.
- Το υψηλό pH της σάρκας των ψαριών (7 έως 7,2), αποτελεί ιδιαίτερα ευνοϊκό περιβάλλον για την ανάπτυξη βακτηρίων.

- Στα ψάρια υπάρχουν ψυχρόφιλα βακτήρια τα οποία αναπτύσσονται ακόμα και στις θερμοκρασίες συντήρησής τους.
- Η μεγάλη ποσότητα νερού στους ιστούς.

Τα χαρακτηριστικά που περιγράφονται παραπάνω, αυξάνουν τις πιθανότητες, το προϊόν να φτάσει ακατάλληλο στον καταναλωτή. Επίσης, σημαντικοί παράγοντες επιμόλυνσης και διασποράς των μικροοργανισμών αποτελούν το stress των ψαριών κατά την σύλληψή τους, οι διάφοροι ανθρώπινοι χειρισμοί, τα υλικά συσκευασίας (τελάρια), η ποιότητα του πάγου, το νερό που χρησιμοποιείται για το πλύσιμό τους και οι συνθήκες (σκόνη, έντομα, τρωκτικά) στα σημεία και καταστήματα πώλησης (Αμπραχίμ 2006).

Μέσα στο ιδιαίτερα απαιτητικό περιβάλλον της διεθνοποίησης της αγοράς, της ελεύθερης διακίνησης προϊόντων μεταξύ των κρατών μελών της Ευρωπαϊκής Ένωσης και σε αγορές που μεταβάλλονται με ταχύτατους ρυθμούς είναι προφανής η ανάγκη για βέλτιστα επίπεδα ποιότητας των τροφίμων και των αλιευμάτων. Για όλα τα παραπάνω έχουν θεσπιστεί κανόνες κοινοτικοί ή εθνικοί για τη διασφάλιση της ποιότητας των τροφίμων με σκοπό την προστασία της δημόσιας υγείας. Στα πλαίσια αυτά η Ευρωπαϊκή Ένωση, ακολουθώντας ολόκληρη τη διαδικασία «από την εκτροφή στο πιάτο» με την εφαρμογή των διεθνών αποδεκτών προτύπων ποιότητας, πρόσφατα θέσπισε τη νομοθεσία του ονομαζόμενου «Πακέτου Υγιεινής» (Τυρπένου 2008):

1. 853/2004 για τον καθορισμό ειδικών κανόνων υγιεινής για τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης.
2. 1662/2006 για τροποποίηση του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 853/2004 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου για τον καθορισμό ειδικών κανόνων υγιεινής για τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης.
3. 854/2004 για τον καθορισμό ειδικών διατάξεων για την οργάνωση των επίσημων ελέγχων στα προϊόντα ζωικής προέλευσης που προορίζονται για κατανάλωση από τον άνθρωπο.
4. 2073/2005 περί μικροβιολογικών κριτηρίων για τα τρόφιμα.

5. 2074/2005 για θέσπιση μέτρων εφαρμογής για ορισμένα προϊόντα βάσει του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 853/2004 και για την οργάνωση επίσημων ελέγχων βάσει των κανονισμών (ΕΚ) αριθ. 854/2004 και (ΕΚ) αριθ. 882/ 2004, για την παρέκκλιση από τον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 852/2004 και για τροποποίηση των κανονισμών (ΕΚ) αριθ.853/2004 και (ΕΚ) αριθ. 854/2004.

6. 1664/2006 για την τροποποίηση του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 2074/2005 σχετικά με μέτρα εφαρμογής για ορισμένα προϊόντα ζωικής προέλευσης που προορίζονται για κατανάλωση από τον άνθρωπο και για την κατάργηση ορισμένων μέτρων εφαρμογής.

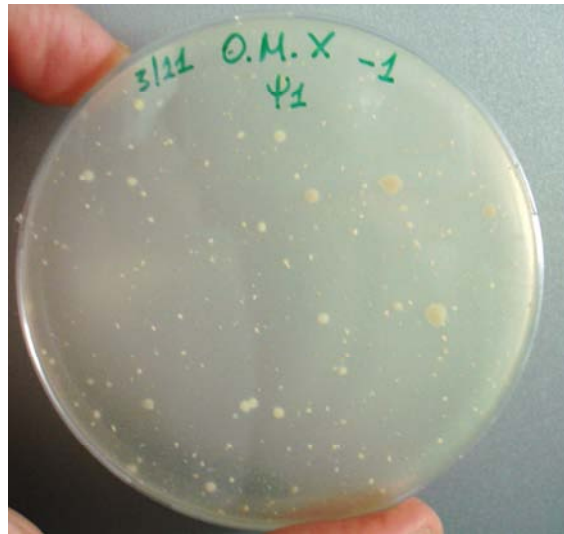
Τα αλιεύματα προσφέρονται στην κατανάλωση σε διάφορες μορφές και απαιτείται η διεξαγωγή μικροβιολογικών αναλύσεων προκειμένου να εξασφαλίζεται η ασφάλειά τους. Τα ψάρια αποικίζονται από μια ποικιλία μικροοργανισμών και ως εκ τούτου μπορούν να αποτελέσουν σημαντικές πηγές τροφιμογενών παθογόνων. Οι μικροβιακοί δείκτες που προτείνονται για την εκτίμηση της ποιότητας των αλιευμάτων και των ιχθυοσκευασμάτων είναι η ολική μεσόφιλη χλωρίδα, ο προσδιορισμός των κολοβακτηριοειδών και της *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio Cholera*, *Vibrio parahaemolyticus* (Hasegawa 1987). Πολλές τροφιμογενείς λοιμώξεις έχουν αποδοθεί στον *Staphylococcus aureus*, στη *Salmonella* spp. και στη *Listeria monocytogenes*, ενώ σε κάποιες περιπτώσεις έχουν καταγραφεί μέχρι και θάνατοι.

1.2. Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα

Ο προσδιορισμός της ολική μεσόφιλης χλωρίδας (Ο.Μ.Χ.) αποτελεί έναν δείκτη της υγιεινής κατάστασης ενός τροφίμου και είναι μια από τις απλούστερες εξετάσεις στις οποίες υποβάλλεται ένα τρόφιμο (Paleari et al 1990, Civera et al 1995, Santoro et al 1996). Ο όγκος και η σύνθεση της μικροχλωρίδας των ψαριών επηρεάζεται από την θερμοκρασία της θάλασσας, την εποχή, τις συνθήκες υγιεινής κατά την αλίευση, την μεταφορά, την διάθεση κ.λ.π. (Βαρελτζής 1999).

Η κυρίαρχη μικροχλωρίδα στα νωπά ψάρια περιλαμβάνει τα γένη *Acinetobacter*, *Aerobacter*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Altermonas*, *Bacillus*,

Clostridium, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Listeria*, *Micrococcus*, *Moraxella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus*, *Vibrio* (Πανέτσος 1978, Αρβανιτογιάννης 2001).



Εικ.1 O.M.X.

Η ολική μεσόφιλη χλωρίδα των ψαριών έχει υψηλή συσχέτιση με το χρόνο συντήρησης τους στην ψύξη. Χρησιμοποιείται από τους περισσότερους ερευνητές ως μικροβιακός δείκτης και με βάση τον προσδιορισμό της έχουν προταθεί κάποια μοντέλα πρόβλεψης για την εκτίμηση του χρόνου συντήρησης των ψαριών σε πάγο (Paleari et al 1990, Santoro et al 1996).

1.3. Ψυχρόφιλοι Μικροοργανισμοί

Οι μικροοργανισμοί αναλόγως του εύρους θερμοκρασιών στις οποίες αναπτύσσονται, διακρίνονται σε θερμοφίλους, μεσόφίλους και ψυχρόφίλους (Παπαδοπούλου 2001). Οι ψυχρόφιλοι μικροοργανισμοί περιλαμβάνουν μια ομάδα μικροοργανισμών που αναπτύσσονται ικανοποιητικά σε θερμοκρασίες από 0°C έως 25°C και διακρίνονται σε (Σκούντζος και Γιώτης 1976):

- υποχρεωτικώς ψυχρόφιλα, τα οποία αναπτύσσονται ικανοποιητικά μεταξύ 2°C και 10°C.

- προαιρετικώς ψυχρόφιλα, τα οποία αναπτύσσονται ικανοποιητικά μεταξύ 10⁰C και 20⁰C.

Πρόκειται για μεγάλη ομάδα μικροοργανισμών (*Pseudomonas*, *Listeria*, *Shewanella* κ.α.) που έχουν μεγάλη σημασία στη μικροβιολογία και στην ασφάλεια των τροφίμων, αφού οι περισσότεροι από αυτούς μπορούν να προκαλέσουν αλλοιώσεις στα τρόφιμα, ενώ κάποιοι είναι παθογόνοι για τη δημόσια υγεία. Όταν προσβάλλουν τον άνθρωπο μπορούν να προκαλέσουν από ήπιες έως πολύ σοβαρές λοιμώξεις, ενώ η παρουσία τους χρησιμοποιείται από πολλούς ερευνητές ως μικροβιακός δείκτης (Βασιλειάδου 2003). Οι ψυχρόφιλοι μικροοργανισμοί διαθέτουν ειδικές πρωτεΐνες με τις οποίες μπορούν να ανταπεξέλθουν σε χαμηλές θερμοκρασίες.

Η τήρηση κανόνων υγιεινής κατά την διαχείριση καθώς και η μείωση της ταχύτητας ανάπτυξης των μικροοργανισμών αμέσως μετά την αλίευσή με την χρήση πάγου από καθαρό πόσιμο νερό οδηγούν σε πολύ καλά αποτελέσματα.

1.4. Εντεροβακτηριοειδή (*Enterobacteriaceae*)

Ονομασία

Enterobacteriaceae (Rahn 1937).

Ταξινόμηση

Τομέας : *Bacteria*

Βασίλειο : *Eubacteria*

Συνομοταξία : *Proteobacteria*

Κατηγορία : *Gamma Proteobacteria*

Παραγγελία : *Enterobacteriales*

Οικογένεια : *Enterobacteriaceae*

Τα εντεροβακτηριοειδή αποτελούν μια αρκετά μεγάλη ομάδα μικροοργανισμών με περισσότερα από 100 διαφορετικά είδη βακτηρίων, που εντοπίζονται συνήθως στον εντερικό σωλήνα τόσο των ζώων όσο και των ανθρώπων. Επίσης, μπορούν να βρεθούν στο περιβάλλον και ιδιαίτερα στο έδαφος και στο νερό. Η παρουσία τους θεωρείται ως μικροβιακός δείκτης (Βασιλειάδου 2003). Τα διάφορα είδη εντεροβακτηριοειδών όταν προσβάλλουν τον άνθρωπο είναι σε θέση να προκαλέσουν διάρροια, πνευμονία, λοιμώξεις του ουροποιητικού, βακτηριαιμία, μηνιγγίτιδα, επιμολύνσεις τραυμάτων, ενώ σε κάποιες περιπτώσεις ακόμα και θάνατο των προσβεβλημένων ατόμων. Εκτιμάται ότι αυτά τα βακτήρια είναι υπεύθυνα για περισσότερους από 100.000 θανάτους ετησίως στις Η.Π.Α.

Στην οικογένεια των εντεροβακτηριοειδών περιλαμβάνονται πολλά γνωστά παθογόνα όπως: *Salmonella* spp, *Yersinia* spp, *Shigella* spp, *Klebsiella* spp, *Proteus* spp, *Providencia* spp, *Morganella* spp, *Salmonella* spp, *Serratia* spp, *Tatumella* spp, *Citrobacter* spp κ.α.

Σύμφωνα με μια μεγάλη έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε φρέσκα ψάρια υπολογίστηκε ότι *Enterobacteriaceae* εντοπίστηκαν στο 31% των δειγμάτων που εξετάστηκαν από καταστήματα λιανικής (Lindberg et al 1998). Τα πλέον συχνά είδη που βρέθηκαν είναι τα *Rahnella aquatilis*, *Escherichia coli*, *Hafnia alvei*.

Η μόλυνση των ψαριών μπορεί να προέλθει από την επαφή με μολυσμένο νερό, με μολυσμένες επιφάνειες κατά την αλίευση και κατά την διάθεση, από τους διάφορους χειρισμούς κατά την συσκευασία ή την πώληση. Η τήρηση κανόνων υγιεινής κατά την αλίευση, την διαχείριση και την διάθεση των ψαριών νερό οδηγούν σε πολύ καλά αποτελέσματα.

1.5. Σταφυλόκοκκος (*Staphylococcus aureus*)

Ονομασία

Staphylococcus aureus (Rosenbach 1884).

Ταξινόμηση

Τομέας : *Bacteria*

Βασίλειο : *Eubacteria*

Συνομοταξία : *Firmicutes*

Κατηγορία : *Bacilli*

Παραγγελία : *Bacillales*

Οικογένεια : *Staphylococcaceae*

Γένος : *Staphylococcus*

Είδος : *Staphylococcus aureus*

Ο *Staphylococcus aureus* (χρυσίζων σταφυλόκοκκος) είναι ένα Gram-θετικό βακτήριο. Έχει σχήμα σφαιρικό με διάμετρο 0,5 – 1,5 μm. Εμφανίζεται σε ζεύγη, μικρές αλυσίδες ή συσσωματώματα με μορφή τσαμπιών σταφυλιού.

Ο *S. aureus* είναι καταλάση θετικός και διαφοροποιείται από τους άλλους σταφυλόκοκκους λόγω της παραγωγής του ενζύμου πηκτάση που μετατρέπει το ινωδογόνο σε ινώδες. Ο *S. aureus* είναι ένα βακτήριο, το οποίο μπορεί να βρεθεί στη σκόνη, στο νερό, στα λύματα, στις διάφορες επιφάνειες εργασίας, στο δέρμα, στις τρίχες, στο λαιμό και στις ρινικές κοιλότητες των ζώων και των ανθρώπων. Περίπου το 30-50% του πληθυσμού είναι φορείς μακράς διάρκειας (Le Loir et al 2003). Οι χειριστές τροφίμων είναι η κύρια πηγή μόλυνσης των τροφίμων, είτε άμεσα με τα χέρια, είτε με σταγονίδια σιέλου μολυσμένων ατόμων. Ο εξοπλισμός και οι περιβαλλοντικές επιφάνειες στις εγκαταστάσεις παραγωγής και επεξεργασίας τροφίμων μπορούν επίσης να αποτελούν πηγές μόλυνσης των τροφίμων από τον μικροοργανισμό. Πολλά στελέχη του μπορούν να παράγουν τοξίνες και αποτελούν αιτιολογικό παράγοντα για λοιμώξεις του δέρματος, βακτηριαιμία, οστεομυελίτιδα, αποστήματα στους νεφρούς, πνευμονία, ενδοκαρδίτιδα, μηνιγγίτιδα και γαστρεντερίτιδα. Τα ψάρια ανήκουν στα τρόφιμα εκείνα που απαιτούν ιδιαίτερη προσοχή κατά την διάθεση, αποθήκευση λόγω των διαφόρων χειρισμών κατά την συσκευασία και την πώληση (Βασιλειάδου 2003).

Η τροφιμογενής λοίμωξη από *S. aureus* αποτελεί μία από τις συχνότερες αιτίες γαστρεντερίτιδας στον κόσμο. Οφείλεται στην κατανάλωση σταφυλοκοκκικών

εντεροτοξινών, οι οποίες βρίσκονται σε τρόφιμα μολυσμένα με *Staphylococcus aureus*. Η συσχέτιση του *S. aureus* ως τροφιμογενές παθογόνο έγινε στις αρχές του 20^{ου} αιώνα από τους Barber (1914) και Dack (1930). Έως εκείνη την εποχή η μόνη γνωστή τοξίνη που παραγόταν από μικροοργανισμούς σε τρόφιμα ήταν η τοξίνη του κλωστηριδίου της αλλαντίασης.

Η τροφιμογενής νόσος που προκαλείται είναι συνεπώς μια τοξίκωση. Αρχικά τα συμπτώματα της σταφυλοκοκκικής τροφιμογενούς δηλητηρίασης είναι συνήθως οξεία και εξαρτώνται από την ευαισθησία του κάθε ατόμου στην τοξίνη, την ποσότητα τοξίνης που λαμβάνεται και την γενική υγεία του ατόμου (Βασιλειάδου 2003). Τα πιο κοινά συμπτώματα είναι ναυτία, έμετος, κοιλιακό άλγος και κατάπτωση. Μερικά άτομα μπορεί να μην εμφανίσουν όλα τα συμπτώματα που συνδέονται με την ασθένεια. Σε πιο βαριές περιπτώσεις μπορούν να εμφανιστούν επίσης πονοκέφαλος, μυϊκοί σπασμοί και παροδικές αλλαγές στην πίεση αίματος και τον σφυγμό. Η ανάρρωση διαρκεί γενικά δύο ημέρες, εντούτοις, δεν είναι ασυνήθιστο η πλήρης ανάρρωση να διαρκέσει τρεις ημέρες και μερικές φορές περισσότερο σε σοβαρές περιπτώσεις. Ο θάνατος από σταφυλοκοκκική τροφιμογενή τοξίκωση είναι σπάνιος, αν και έχουν αναφερθεί περιστατικά που αφορούν κυρίως ηλικιωμένα ή σοβαρά εξασθενημένα άτομα και νεογννήτα (Παπαδοπούλου 2001).

Η ποσότητα της παραγόμενης εντεροτοξίνης από τον *S. aureus* εξαρτάται από φυσικούς και χημικούς παράγοντες με κρισιμότερους το περιβάλλον του τροφίμου (σύσταση, θερμοκρασία). Ποσότητα σταφυλοκοκκικής τοξίνης 1μg έως 20μg μπορεί προκαλέσει τροφιμογενή τοξίκωση. Αυτό το επίπεδο τοξίνης μπορεί να παραχθεί όταν ο αριθμός των κυττάρων του *S. aureus* είναι μεταξύ 10⁵ έως 10⁸ cfu/gr τροφίμου (FDA 2001).

Ο *S. aureus* μπορεί να αναπτυχθεί σε ένα ευρύ φάσμα θερμοκρασιών (7 έως 48,5⁰C), αλλά η βέλτιστη ανάπτυξη παρατηρείται σε θερμοκρασία 30 έως 37⁰C (Schmitt et al 1990). Μέχρι σήμερα 11 διαφορετικές τοξίνες έχουν εντοπιστεί και εμπλέκονται σε τροφιμογενή νόσο. Οι προϋποθέσεις για την ανάπτυξη του οργανισμού και τις συνθήκες υπό τις οποίες η τοξίνη που παράγεται διαφέρουν ελαφρώς.

Πίνακας 1. Προϋποθέσεις ανάπτυξης του *S.aureus* & παραγωγής τοξινών (Schmitt et al 1990).

Παράμετρος	Ανάπτυξη <i>S.aureus</i>	Παραγωγή τοξινών
Θερμοκρασία	7-48° C (βέλτιστη 37°C)	10-48 °C (βέλτιστη 40-45°C)
a_w	0,83 -> 0,99 αερόβια 0,90 -> 0,99 αναερόβια	0.85-> 0,99 αερόβια 0,92-> 0,99 αναερόβια
pH	4-10 (βέλτιστη 6-7)	4-9,6 (βέλτιστη 7-8)

Ο *S. aureus* έχει μερικές μοναδικές ιδιότητες αντοχής στις περιβαλλοντικές συνθήκες, οι οποίες βοηθούν στην επιβίωση και την ανάπτυξή του στα τρόφιμα. Μπορεί να επιβιώσει σε ψηλές συγκεντρώσεις NaCl (μέχρι και 25%) και σε $a_w < 0,86$, το οποίο συνεπάγεται την επιβίωση και την ανάπτυξή του ακόμα και σε αλατισμένα προϊόντα (Le Loir et al 2003).

Σε έρευνες που έχουν κατά καιρούς πραγματοποιηθεί για την παρουσία του μικροοργανισμού στα νωπά αλιεύματα τα ποσοστά παρουσίας ποικίλλουν. Στην Ινδία διαπιστώθηκε παρουσία *S. aureus* σε περίπου 4% των δειγμάτων νωπών αλιευμάτων που εξετάστηκαν (Ινδικό Ινστιτούτο Κτηνιατρικών Ερευνών 1993). Σε αντίστοιχη μελέτη στη Βραζιλία ο *S. aureus* απομονώθηκε από το 20% των ψαριών που εξετάστηκαν (Ayulo et al 2002). Στην ευρύτερη περιοχή της Ανατολικής Μεσογείου το παθογόνο βακτήριο εντοπίστηκε στο 18% των δειγμάτων ψαριών που εξετάστηκαν (Καλλιανιώτης 2008).

1.6. Σαλμονέλα (*salmonella spp*)

Επιστημονική Ονομασία

Salmonella (Lignieres 1900).

Επιστημονική ταξινόμηση

Βασίλειο : *Bacteria*

Συνομοταξία : *Gamma Proteobacteria*

Παραγγελία : *Enterobacteriales*

Οικογένεια : *Enterobacteriaceae*

Γένος : *Salmonella*

Είδος : *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi*, *Salmonella sendai*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella bongori*, *Salmonella gallinarum*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella abortus ovis*, *Salmonella napoli*, *Salmonella newport*, *Salmonella saintpaul*, *Salmonella eastbourne*, *Salmonella Heidelberg*, *Salmonella cubana*, *Salmonella anatum*, *Salmonella zanzibar*, *Salmonella meleagridis* κ.α.

Το γένος των σαλμονελών αποτελεί τυπικό μέλος της οικογένειας των εντεροβακτηριοειδών. Πρόκειται για βακτήρια τα οποία είναι αερόβια Gram-αρνητικά, οξειδάση αρνητικά, καταλάση θετικά, κινητά με βλεφαρίδες (με εξαίρεση τα είδη *Salmonella gallinarum* και *Salmonella pullorum*).

Οι σαλμονέλες ανευρίσκονται στον εντερικό σωλήνα διάφορων ζωικών οργανισμών, με τα κόπρανα των οποίων εξέρχονται στο περιβάλλον. Επίσης υπάρχουν ασυμπτωματικοί φορείς σαλμονελών, οι οποίοι μπορούν να αποβάλλουν τους μικροοργανισμούς στο περιβάλλον με τα κόπρανα. Οι σαλμονέλες, μέσω των λυμάτων ανθρώπινης και ζωικής προέλευσης, επιμολύνουν το υδάτινο περιβάλλον και τα πόσιμα ύδατα. Τα ψάρια επιμολύνονται με σαλμονέλες είτε με τα χέρια χειριστών που είναι φορείς, είτε με επαφή με μολυσμένες επιφάνειες, είτε με μολυσμένο νερό. Η παρουσία τους θεωρείται σημαντικός μικροβιακός δείκτης υγιεινής (Βασιλειάδου 2003). Οι σαλμονέλες αποτελούν ίσως το συχνότερο αίτιο τροφιμογενών λοιμώξεων, των οποίων η συχνότητα τα τελευταία χρόνια αυξάνεται συνεχώς.

Ταξινομούνται ανάλογα με το είδος στο οποίο είναι προσαρμοσμένες στις παρακάτω ομάδες (Παπαδοπούλου 2001):

- Σαλμονέλες προσαρμοσμένες μόνο στον άνθρωπο (*S.typhi*, *S.paratyphi*, *S.Sendai*), οι οποίες δεν είναι παθογόνες για τα ζώα. Αυτά τα είδη ευθύνονται για τον τυφοειδή πυρετό και τους παρατύφους.
- Σαλμονέλες που προσβάλλουν τον άνθρωπο και τα ζώα (*S.enteritidis*, *S.typhimurium*). Αυτά τα είδη ευθύνονται για την σαλμονέλωση ή κλασσική τροφιμογενή λοίμωξη από σαλμονέλα.
- Σαλμονέλες που προσβάλλουν κυρίως τα ζώα και τα πτηνά (*S.gallinarum*, *S.choleraesuis*, *S.abortus ovis*). Τα είδη αυτά προσβάλλουν τον άνθρωπο σπάνια με συμπτώματα πολύ ήπια.

Τα συμπτώματα που προκαλούνται κατά τον τυφοειδή πυρετό είναι υψηλός πυρετός (40°C), δυσκοιλιότητα, διάρροια, ερύθημα, βραδυκαρδία και σπληνομεγαλία. Στην τροφιμογενή λοίμωξη από σαλμονέλα τα συμπτώματα που παρατηρούνται είναι ναυτία, εμετός, διάρροια, πυρετός, πονοκέφαλος και εμφανίζονται εντός 12–36 ωρών .

Η λοιμογόνος δόση των σαλμονελών διαφέρει ανάλογα με το είδος τους. Κυμαίνεται από μερικά κύτταρα μέχρι εκατομμύρια κύτταρα και εκτός από το είδος της σαλμονέλας σημαντικό ρόλο παίζει η ηλικία και η κατάσταση του ανοσοποιητικού συστήματος των ατόμων.

Πίνακας 2. Λοιμογόνος δόση διάφορων ειδών σαλμονελών βάσει των σχετικών αναφορών (D'Aoust 1989).

Είδος σαλμονέλλας	Λοιμογόνος δόση (cfu)
<i>Salmonella typhimurium</i>	$10^1 - 10^4$
<i>Salmonella napolii</i>	$10^1 - 10^2$
<i>Salmonella newport</i>	$10^1 - 10^2$
<i>Salmonella saintpaul</i>	$4,5 \times 10^1$
<i>Salmonella eastbourne</i>	10^2

<i>Salmonella Heidelberg</i>	10^2
<i>Salmonella cubana</i>	10^4
<i>Salmonella anatum</i>	$10^5 - 10^7$
<i>Salmonella zanzibar</i>	$10^5 - 10^{11}$
<i>Salmonella meleagridis</i>	$10^6 - 10^7$
<i>Salmonella gallinarum</i>	$10^6 - 10^{10}$

Πίνακας 3. Ορότυποι *Salmonella spp*, οι οποίοι απομονώθηκαν από άτομα που νόσησαν στην Ελλάδα (EFSA 2004).

Greece	other serovars	29
	<i>S. adamstua</i>	2
	<i>S. agama</i>	1
	<i>S. anatum</i>	1
	<i>S. blockley</i>	1
	<i>S. enteritidis</i>	309
	<i>S. infantis</i>	1
	<i>S. paratyphi A</i>	2
	<i>S. typhi</i>	6
	<i>S. typhimurium</i>	20
	<i>Salmonella spp</i>	1121

Εκτιμάται ότι 2 με 4 εκατομμύρια περιπτώσεις σαλμονέλλωσης συμβαίνουν στις ΗΠΑ ετησίως. Η συχνότητα εμφάνισης της σαλμονέλλωσης φαίνεται να αυξάνεται τόσο στις ΗΠΑ και σε άλλες βιομηχανικές χώρες. Δραματική αύξηση της

παρουσίας της *Salmonella enteritidis* παρατηρήθηκε την τελευταία δεκαετία, κυρίως στις βορειοανατολικές Ηνωμένες Πολιτείες (6 φορές ή περισσότερο) (Summary of Notifiable Diseases USA 1996).

Οι σαλμονέλες γενικά επιζούν σε εύρος θερμοκρασιών 5°C – 45°C, με άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης τους 37°C. Υπάρχουν αναφορές επιβίωσης θερμοάντοχων στελεχών που υποβλήθηκαν σε προθέρμανση στους 48°C και στη συνέχεια επέζησαν σε θέρμανση στους 60°C για 4,5 min. Γενικά πάντως οι σαλμονέλες είναι ευαίσθητες στη θέρμανση και θεωρείται ότι εξουδετερώνονται με την θέρμανση πάνω από 70°C. Η ανάπτυξή τους αναστέλλεται σε οξειδοαναγωγικό δυναμικό < 30 mV (Παπαδοπούλου 2001). Οι σαλμονέλλες αναπτύσσονται σε τιμές pH από 4,5 έως 9,5 (ιδανικά σε 6,5-7,5). Η ανάπτυξη του παθογόνου εμποδίζεται σε τρόφιμα με $a_w \leq 0,93$. Συγκέντρωση NaCl $\geq 4\%$ θεωρείται ότι σε γενικές γραμμές, αποτρέπει την ανάπτυξη των σαλμονελλών (D'Aoust 1989).

Τα ωμά ή ατελώς θερμικά επεξεργασμένα τρόφιμα και η επιμόλυνση που γίνεται όταν έρχεται το τρόφιμο σε επαφή με νωπά προϊόντα ή μολυσμένες επιφάνειες (π.χ. σανίδες τεμαχισμού), είναι οι κύριες αιτίες της μόλυνσης του ανθρώπου. Η τήρηση των κανόνων υγιεινής κατά τον χειρισμό των τροφίμων, η επαρκής θερμική επεξεργασία τους και ο καλός καθαρισμός όλων των επιφανειών που έρχονται σε επαφή με το τρόφιμο προστατεύουν σε πολύ μεγάλο βαθμό τη μόλυνση από σαλμονέλες.

1.7. Λιστέρια (*Listeria monocytogenes*)

Επιστημονική Ονομασία

Listeria monocytogenes (Murray 1926)

Επιστημονική ταξινόμηση

Τομέας : *Bacteria*

Βασίλειο : *Eubacteria*

Συνομοταξία : *Firmicutes*

Κατηγορία : *Bacilli*

Παραγγελία : *Bacillales*

Οικογένεια : *Listeriaceae*

Γένος : *Listeria*

Είδος : *Listeria monocytogenes*

Η *Listeria monocytogenes* είναι Gram-θετικό βακτήριο το οποίο κινείται με την βοήθεια μαστιγίων. Είναι καταλάση θετικό, οξειδάση αρνητικό και είναι παθογόνο για τον άνθρωπο και για διάφορα είδη ζώων και πτηνών, από τα οποία μεταδίδεται στον άνθρωπο είτε απευθείας, είτε με τα τρόφιμα.

Είναι ένας ευρύτατα διαδεδομένος μικροοργανισμός στη φύση. Έχει βρεθεί σε πολλά είδη θηλαστικών, σε πολλά είδη πουλιών, σε είδη ψαριών και οστρακόδερμων, στο χώμα, στο νερό, στις αποχετεύσεις, σε νωπό γάλα, σε νωπά λαχανικά και σε νωπά ή καπνιστά ψάρια. Ορισμένες μελέτες δείχνουν ότι 1-10% των ανθρώπων μπορεί να είναι φορείς της *Listeria monocytogenes* στο έντερο. Λόγω της αντοχής της στο περιβάλλον είναι εύκολο να εγκατασταθεί και να επιβιώσει στις εγκαταστάσεις παραγωγής τροφίμων (δάπεδα, επιφάνειες, συσκευές, μηχανήματα) και να μολύνει συνεχώς τα τελικά προϊόντα. Η δυνατότητά της να αναπτύσσεται σε χαμηλές θερμοκρασίες επιτρέπει την ανάπτυξή της ακόμα και σε συνθήκες ψύξης των τροφίμων.

Η *Listeria monocytogenes* είναι παθογόνο βακτήριο για τον άνθρωπο και σχετίζεται με τροφιμογενείς λοιμώξεις. Είναι ο αιτιολογικός παράγοντας της Λιστερίωσης που σε ποσοστό 20-30% των ατόμων που νοσούν μπορεί ακόμα και να αποβεί μοιραία για τη ζωή τους (Mead et al 1999). Οι εκδηλώσεις της ασθένειας περιλαμβάνουν πυρετό, ναυτία, έμετο, διάρροια, σηψαιμία, μηνιγγίτιδα και εγκεφαλίτιδα. Κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης μπορεί να οδηγήσει σε αποβολή του εμβρύου, σε πρόωρο τοκετό, σε θνησιγενή έμβρυα και σε πρόωρα νεογννήτα με καρδιακά, αναπνευστικά και νευρικά συμπτώματα. Το πρώτο περιστατικό λοίμωξης που αποδόθηκε στον μικροοργανισμό αναφέρθηκε στη Δανία το 1929, ενώ το 1979 καταγράφηκε η πρώτη επιδημία στην Βοστώνη των ΗΠΑ με περίπου 15% θνησιμότητα (Nyfeld 1929, Ho et al 1986).

Η λοιμογόνος δόση εξαρτάται από μία σειρά παράγοντες μεταξύ των οποίων σημαντικό ρόλο παίζει η κατάσταση του ανοσοποιητικού συστήματος του ατόμου. Η λιστερίωση είναι μια πολύ σοβαρή λοίμωξη και γι' αυτό το λόγο δεν έχουν γίνει πειράματα σε εθελοντές. Από μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί σε τρόφιμα, που έχουν ενοχοποιηθεί για τροφιμογενή λοίμωξη από *L. monocytogenes*, η λοιμογόνος δόση καθορίστηκε σε περίπου 10^2 cfu/gr, ενώ στις περισσότερες περιπτώσεις ο πληθυσμός του παθογόνου στο εμπλεκόμενο τρόφιμο ξεπερνούσε το 10^3 cfu/g (FDA/FSIS 2001).

Η *L. monocytogenes* μπορεί να αναπτυχθεί σε θερμοκρασίες 5°C έως 45°C , ενώ σε θερμοκρασίες $<5^{\circ}\text{C}$ συνεχίζει να πολλαπλασιάζεται με πολύ βραδύτερο ρυθμό. Η *L. monocytogenes* είναι ευαίσθητη στη θέρμανση και εξουδετερώνεται κατά την παστερίωση. Αναπτύσσεται συνήθως σε pH από 5,6 – 9,6, ενώ αν και μπορεί να επιβιώσει σε τιμές pH χαμηλότερες 4,3 δεν πολλαπλασιάζεται (Lou and Yousef 1999). Για την ανάπτυξή της απαιτείται ελάχιστη τιμή ενεργού υγρασίας (a_w) 0.93, αλλά έχουν αναφερθεί περιπτώσεις στελεχών που μπορούν να αναπτυχθούν και σε τιμές a_w 0.90 (Lou and Yousef 1999).

Έχει απομονωθεί από πολλά τρόφιμα. Κύρια αιτία μόλυνσης είναι τα νωπά και κατεψυγμένα κρέατα και τα πουλερικά, τα μη παστεριωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα, τα ωμά λαχανικά, τα ατελώς θερμασμένα φαγητά, τα αλλαντικά, τα έτοιμα για κατανάλωση τρόφιμα τα οποία διατηρούνται στα ψυγεία των super-markets και τα ψάρια (WHO/FAO 2004) .

Πίνακας 4. Αριθμός κρουσμάτων λιστερίωσης στις χώρες της Ε.Ε. το 2004 (EFSA 2004)

ΗΛΙΚΙΕΣ								
	<1	1 έως 4	5 έως 14	15 έως 24	25 έως 44	45 έως 64	65	Αγνώστου ηλικίας
<i>Listeria monocytogenes</i>								
Αυστρία	0	0	0	0	0	10	9	0
Βέλγιο	7	-	2	1	7	18	35	-
Τσεχία	0	1	1	0	4	5	5	0

Δανία	3	-	-	-	2	10	26	-
Εσθονία	0	0	0	0	0	2	0	0
Φινλανδία	0	0	0	0	3	8	24	0
Γαλλία	0	1	4	0	7	55	120	-
Γερμανία	20	3	-	2	30	77	163	-
Ουγγαρία	0	0	0	0	3	10	2	0
Ιρλανδία	-	-	-	-	4	3	3	1
Ιταλία	-	-	-	1	3	9	12	-
Λετονία	2	-	-	-	1	1	-	-
Λιθουανία	0	0	0	0	0	1	0	-
Νορβηγία	1	-	-	-	1	9	10	-
Πορτογαλία	-	-	-	11	23	-	-	1
Σλοβακία	-	-	-	-	3	3	2	-
Σουηδία	1	1	0	0	3	10	29	0
Ολλανδία	1	0	0	0	6	15	29	4
Listeria spp								
Αυστρία	0	0	0	0	0	10	9	0
Ελλάδα	0	0	0	0	0	0	3	0
Ουγγαρία	0	0	0	0	0	0	1	0
Ιρλανδία	-	-	-	-	4	2	3	1
Λετονία	2	-	-	-	2	1	-	-
Νορβηγία	1	-	-	-	1	9	10	-
Πολωνία	-	-	-	-	-	-	-	10
Πορτογαλία	-	-	-	11	23	1	1	1

Σλοβενία	-	-	-	-	-	1	-	-
Ισπανία	9	-	-	-	15	26	46	4
Σουηδία	1	1	0	0	3	10	29	0
Ολλανδία	1	0	0	0	6	15	29	4
Αγγλία	6	2	3	3	30	47	135	10

Τρόφιμα που δεν υφίστανται επαρκή θερμική επεξεργασία μπορεί να περιέχουν ζωντανά κύτταρα της *Listeria monocytogenes*, τα οποία κάτω από κατάλληλες συνθήκες πολλαπλασιάζονται και καθιστούν τα τρόφιμα επικίνδυνα για τη δημόσια υγεία. Πηγή επιμόλυνσης αποτελεί και η επαφή των θερμικά επεξεργασμένων τροφίμων με νωπά τρόφιμα, υλικά ή μολυσμένες επιφάνειες επεξεργασίας τροφίμων.

Σχετικά με την παρουσία *L. monocytogenes* σε νωπά ψάρια από διάφορες μελέτες που έγιναν φαίνεται ότι η παρουσία της σε αυτά κυμαίνεται σε χαμηλά ποσοστά έως 1% (Autio et al 1999, Johansson et al 1999, Παπαδοπούλου και συν 2007, Soultos et al 2007). Οι Jemmi and Keusch (1994) αναφέρουν ποσοστό απομόνωσης του παθογόνου 10% από τα δείγματα που εξέτασαν.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ
ΔΕΥΤΕΡΟ
ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ – ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.A. Εγκαταστάσεις και όργανα που χρησιμοποιήθηκαν

Οι εξετάσεις πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο τροφίμων του Κτηνιατρικού Εργαστηρίου Πατρών. Χρησιμοποιήθηκαν οι εγκαταστάσεις και τα όργανα του εργαστηρίου τα οποία χρησιμοποιούνται στους καθημερινούς ελέγχους που πραγματοποιεί το συγκεκριμένο εργαστήριο. Τα συγκεκριμένα όργανα είναι διακριβωμένα, από πιστοποιημένη εταιρεία (Link Lab), για την ακρίβεια των μετρήσεών τους. Οι εγκαταστάσεις & τα όργανα που χρησιμοποιήθηκαν είναι τα παρακάτω:

- Εργαστηριακός πάγκος



Εικ.2 Οι δύο εργαστηριακοί χώροι του Κτηνιατρικού Εργαστηρίου Πατρών που χρησιμοποιήθηκαν για την εργασία.

- Πάγκος παραγωγής υποστρωμάτων
- Υδατόλουτρο



Εικ.3 Υδατόλουτρα.

- Ανακινητής vortex



Εικ.4 Ανακινητής vortex.

- Ζυγοί ακριβείας



Εικ.5 Ζυγοί ακριβείας.

- Μετρητής αποικιών



Εικ.6 Μετρητής αποικιών.

- Κλίβανοι



Εικ.7 Κλίβανος.

- Κλίβανος αποστείρωσης



Εικ.8 Κλίβανος αποστείρωσης που χρησιμοποιήθηκε κατά την παραγωγή υποστρωμάτων.

2. Β. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Για την πραγματοποίηση της εργασίας αυτής εξετάσθηκαν συνολικά πενήντα (50) ψάρια. Ανά είδος χρησιμοποιήθηκαν εικοσιπέντε (25) τσιπούρες και εικοσιπέντε (25) λαυράκια. Το ατομικό βάρος των ψαριών ήταν περίπου 300g. Έγινε δειγματοληψία από καταστήματα πώλησης στις μεγάλες πόλεις του νομού Αχαΐας. Συγκεκριμένα, συλλέχθηκαν δείγματα από δύο (2) καταστήματα της Πάτρας, ένα (1) του Αιγίου, ένα (1) της Κάτω Αχαΐας και ένα (1) των Καλαβρύτων κατά το χρονικό διάστημα από την 1^η Σεπτεμβρίου 2009 έως την 15^η Νοεμβρίου 2009. Όλες οι δειγματοληψίες έγιναν στις 07:30 π.μ. περίπου και πάντα ημέρα Δευτέρα. Εξετάσθηκαν πέντε (5) τσιπούρες και πέντε (5) λαυράκια από κάθε κατάστημα πώλησης.



Εικ.9 Δείγμα τσιπούρας.

Κατά την δειγματοληψία τα δείγματα είχαν ελαφριά ευχάριστη οσμή, επιφάνεια σώματος γυαλιστερή, σώμα δύσκαμπτο, σάρκα συμπαγή χωρίς να παραμένουν τα αποτυπώματα των δακτύλων μετά από ήπια πίεση, λέπια και πτερύγια σταθερά προσκολλημένα στο σώμα, μάτια διαυγή, βράγχια κόκκινα και γυαλιστερά. Τα ψάρια τοποθετήθηκαν ανά ένα (1) σε αποστειρωμένες σακούλες stomacher και όλες σε μικρό ψυγείο μεταφοράς με παγοκύστεις. Στη συνέχεια εντός μίας (1) ώρας μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο όπου πραγματοποιήθηκαν οι εξετάσεις. Όταν ανοίχτηκαν οι κοιλίες τους τα σπλάχνα ήταν υπόλευκα με μια ελαφριά οσμή.

Μετά την δειγματοληψία και την μεταφορά των ψαριών στο εργαστήριο ξεκίνησε η διαδικασία των μικροβιολογικών αναλύσεων οι οποίες έγιναν σύμφωνα με τα διεθνή πρότυπα (ISO) για κάθε περίπτωση.

2.B1. Απαρίθμηση της Ολικής Μεσόφιλης Χλωρίδας

Η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε για την απαρίθμηση των μικροοργανισμών στηρίχτηκε στο ISO 4833:2003 (ΕΛΟΤ 2003) καταμετρώντας τις αποικίες που αναπτύχθηκαν σε υπόστρωμα ύστερα από επώαση σε αερόβιες συνθήκες στους 30°C.

Από κάθε ψάρι λήφθηκε υπό άσηπτες συνθήκες δείγμα σάρκας και δέρματος 10g το οποίο τοποθετήθηκε σε σακούλα stomacher, η οποία περιείχε 90ml αραιωτικό διάλυμα Peptone Salt (AES France) ώστε να επιτευχθεί μια αρχική αραιώση 1:10. Τα δείγματα ομογενοποιήθηκαν σε συσκευή stomacher για 2 λεπτά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Ακολούθησαν διαδοχικές δεκαδικές αραιώσεις σε στείρο διάλυμα Peptone Salt (AES France) μέχρι αραιώση -4.



Εικ.10 Διαδικασία αραιώσεων.

Στη συνέχεια έγινε ενσωμάτωση σε τριβλία σε υπόστρωμα Plate Count Agar (PCA) (Biokar France). Κατόπιν τα τριβλία επώαστηκαν στους 30°C για 72h. Μετά την επώαση έγινε καταμέτρηση των αποικιών σε κάθε τριβλίο petri και κατόπιν υπολογισμός του αριθμού των μικροοργανισμών.

Για τον υπολογισμό χρησιμοποιήθηκε ο τύπος $N = \Sigma c / V(\eta_1 + 0,1 \eta_2)d$, όπου:

Σc = το άθροισμα των αποικιών που μετρήθηκαν σε όλα τα τριβλία που κρατήθηκαν από δύο επιτυχείς αραιώσεις, τουλάχιστον μία από τις οποίες να περιέχει 15 αποικίες.

V = ο όγκος ενοφθαλμίσματος κάθε τριβλίου (1ml).

η_1 = ο αριθμός των τριβλίων που κρατήθηκαν στην πρώτη αραιώση (1).

η_2 = ο αριθμός των τριβλίων που κρατήθηκαν στην δεύτερη αραιώση (1).

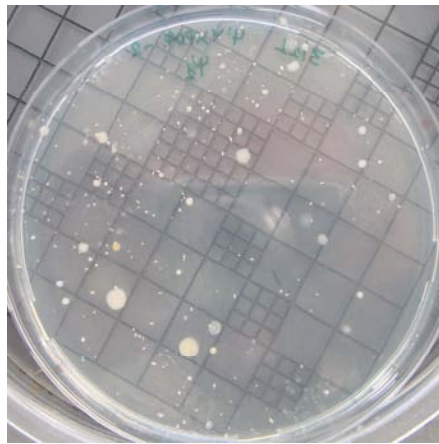
d = ο συντελεστής αραιώσης που αντιστοιχεί στην πρώτη αραιώση που κρατήθηκε.

2.B2. Απαρίθμηση των Ψυχρόφιλων Μικροοργανισμών

Η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε για την απαρίθμηση των ψυχρόφιλων μικροοργανισμών στηρίχτηκε στο ISO 17410:2001 (ΕΛΟΤ 2001) καταμετρώντας τις αποικίες που αναπτύχθηκαν σε υπόστρωμα ύστερα από επώαση σε αερόβιες συνθήκες στους 21°C.

Από κάθε ψάρι πάρθηκε ένα δείγμα σάρκας και δέρματος 10g το οποίο τοποθετήθηκε σε σακούλα stomacher, η οποία περιείχε 90ml αραιωτικού διαλύματος Peptone Salt (AES France) ώστε να επιτευχθεί μια αρχική αραιώση 1:10. Τα δείγματα ομογενοποιήθηκαν στη συσκευή stomacher για 2 λεπτά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Ακολούθησαν διαδοχικές δεκαδικές αραιώσεις σε στείρο διάλυμα Peptone Salt (AES France) μέχρι αραιώση -4.

Στη συνέχεια έγινε ενσωμάτωση με εκλεκτικό υπόστρωμα Plate Count Agar (PCA) (Biokar France). Κατόπιν τα τριβλία επωάζονταν στους 21°C για 72h. Μετά την επώαση έγινε καταμέτρηση των αποικιών σε κάθε τριβλίο petri και κατόπιν υπολογισμός του αριθμού των ψυχρόφιλων μικροοργανισμών.



Εικ.11 Καταμέτρηση αποικιών.

Για τον υπολογισμό χρησιμοποιήθηκε ο τύπος $N = \Sigma c / V(\eta_1 + 0,1 \eta_2)d$, όπου:

Σc = το άθροισμα των αποικιών που μετρήθηκαν σε όλα τα τριβλία που κρατήθηκαν από δύο επιτυχείς αραιώσεις, τουλάχιστον μία από τις οποίες να περιέχει 15 αποικίες.

V = ο όγκος ενοφθαλμίسمatos κάθε τριβλίου (1ml).

η_1 = ο αριθμός των τριβλίων που κρατήθηκαν στην πρώτη αραιώση (1).

η_2 = ο αριθμός των τριβλίων που κρατήθηκαν στην δεύτερη αραιώση (1).

d = ο συντελεστής αραιώσης που αντιστοιχεί στην πρώτη αραιώση που κρατήθηκε.

2.B3. Ανίχνευση και απαρίθμηση των Εντεροβακτηριοειδών

Η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε για την απαρίθμηση των εντεροβακτηριοειδών στηρίχτηκε στο ISO 21528-2004 Part 1 & 2 (ΕΛΟΤ 2004) καταμετρώντας τις αποικίες που αναπτύχθηκαν σε υπόστρωμα Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA Oxoid) και έχουν αρνητική αντίδραση στο test οξειδάσης.

Από κάθε ψάρι πάρθηκε ένα δείγμα σάρκας και δέρματος 10g το οποίο τοποθετήθηκε σε σακούλα stomacher, η οποία περιείχε 90ml αραιωτικό διάλυμα Peptone Salt (AES France) ώστε να επιτευχθεί μια αρχική αραιώση 1:10. Τα δείγματα ομογενοποιήθηκαν στη συσκευή stomacher για 2 λεπτά σε θερμοκρασία

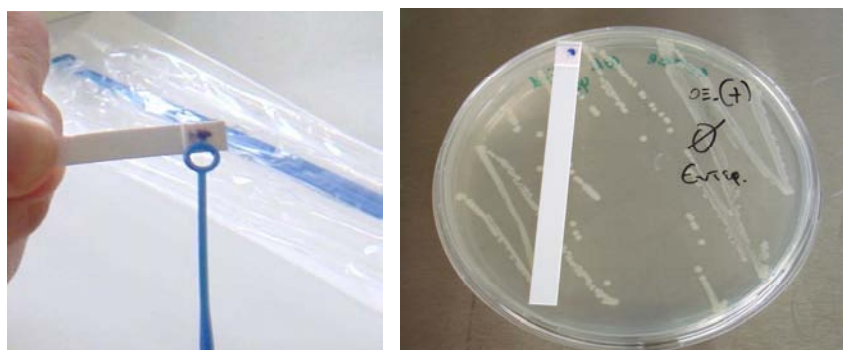
περιβάλλοντος. Ακολούθησαν διαδοχικές δεκαδικές αραιώσεις σε στείρο διάλυμα Peptone Salt (AES France) (9ml σε κάθε σωλήνα αραιώσης) μέχρι αραιώση -4.



Εικ.12 Ενσωμάτωση VRBG Agar.

Στη συνέχεια έγινε ενσωμάτωση με εκλεκτικό υπόστρωμα Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA) (Oxoid England). Αφού τα τριβλία στέγνωσαν έγινε επιστοιβάδευση με Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA) (Oxoid England). Κατόπιν τα τριβλία επωάστηκαν στους 37°C για 24h.

Επιλέχθηκαν πέντε (5) αποικίες και έγινε σπορά από κάθε μία σε τριβλία petri με υπόστρωμα Nutrient Agar (BD USA). Τα τριβλία επωάστηκαν στους 37°C για 24h. Από αυτά τα τριβλία επιλέχθηκε μία αποικία και έγινε test οξειδάσης (Merck Germany) (τοποθετώντας την αποικία επάνω σε έτοιμα sticks). Το test οξειδάσης (Merck Germany) είναι θετικό (δεν ανιχνεύτηκαν εντεροβακτηριοειδή) όταν το stick μετά από λίγα δευτερόλεπτα γίνει σκουρόχρωμο και αρνητικό όταν παραμένει ανοιχτόχρωμο.



Εικ.13 & 14 Test οξειδάσης.

Επειδή το test οξειδάσης (Merck Germany) ήταν αρνητικό έγινε νυγμός σε σωλήνα με Glucose Agar (Oxoid England).



Εικ.15 Νυγμός σε Glucose Agar.

Ο σωλήνας επώαστηκε στους 37°C για 24h. Επειδή ο σωλήνας αποχρωματίστηκε και από βιολετί χρώμα έγινε κίτρινος σημαίνει ότι έγινε ζύμωση της γλυκόζης και αλλαγή του pH οπότε είχαμε ανίχνευση εντεροβακτηριοειδών.



Εικ.16 & 17 Σωλήνας με Glucose Agar πριν και μετά την επώαση.

Μετά από αυτή την εξέλιξη έγινε υπολογισμός του αριθμού των μικροοργανισμών με βάση την καταμέτρηση των αποικιών που είχαμε κάνει νωρίτερα.

Για τον υπολογισμό χρησιμοποιήθηκε ο τύπος $N = \Sigma c / V(\eta_1 + 0,1 \eta_2)d$, όπου:

Σc = το άθροισμα των αποικιών που μετρήθηκαν σε όλα τα τριβλία που κρατήθηκαν από δύο επιτυχείς αραιώσεις, τουλάχιστον μία από τις οποίες να περιέχει 15 αποικίες.

V = ο όγκος ενοφθαλμίσματος κάθε τριβλίου (1ml).

η_1 = ο αριθμός των τριβλίων που κρατήθηκαν στην πρώτη αραιώση (1).

η_2 = ο αριθμός των τριβλίων που κρατήθηκαν στην δεύτερη αραιώση (1).

d = ο συντελεστής αραιώσης που αντιστοιχεί στην πρώτη αραιώση που κρατήθηκε.

2.B4. Ανίχνευση της *Listeria monocytogenes*

Η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε για την διαπίστωση της ύπαρξης *Listeria monocytogenes* στηρίχτηκε στο ISO 11290-1998 Part 1 & 2 (ΕΛΟΤ 1998) και το βιοχημικό τέστ (MicrogenTM-ID System) στις καταλάση θετικές αποικίες που αναπτύχθηκαν σε υποστρώματα ALOA (AES France) & Oxford (Biokar France). Η διάρκεια της διαδικασίας ανίχνευσης της *Listeria monocytogenes* ήταν πέντε (5) ημέρες για κάθε δειγματοληψία.

Από κάθε ψάρι λήφθηκε ένα δείγμα σάρκας και δέρματος 25g το οποίο τοποθετήθηκε σε σακούλα stomacher, η οποία περιείχε 225ml διαλύματος Half Fraser (Biokar France) ώστε να επιτευχθεί μια αρχική αραιώση 1:10. Τα δείγματα ομογενοποιήθηκαν στη συσκευή stomacher για 2min σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Οι σακούλες μετά την ομογενοποίηση επωάστηκαν στους 30°C για 24h. Μετά την πάροδο των 24h έγινε σπορά από τις σακούλες σε τριβλία petri με υπόστρωμα ALOA (AES France), σε τριβλία petri με υπόστρωμα Oxford (Biokar France) και ενοφθαλμισμός σε σωλήνα Fraser (Biokar France) 10ml. Τα τριβλία και ο σωλήνας επωάστηκαν στους 37°C για 48h.



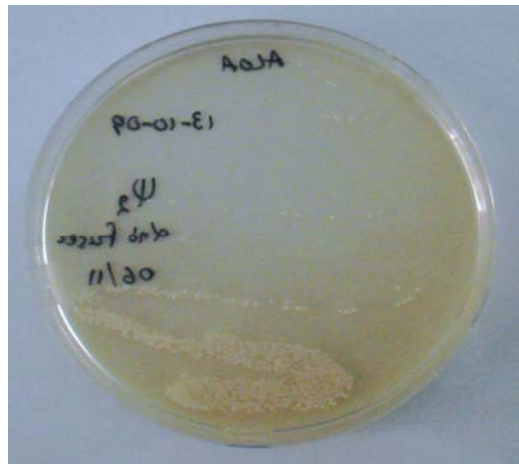
Εικ.18 Petri με Oxford Agar ύστερα από επώαση.

Ο σχηματισμός πράσινων αποικιών με άλω στα τριβλία με υπόστρωμα ALOA (AES France) είναι ύποπτες. Επίσης ο σχηματισμός μαύρων αποικιών με γύρω ίζημα στα τριβλία με υπόστρωμα Oxford (Biokar France) είναι ύποπτες.



Εικ.19 & 20 Σωλήνες Fraser πριν & μετά την επώαση.

Από το σωλήνα με Fraser έγινε σπορά σε τριβλία με υπόστρωμα ALOA (AES France) και Oxford (Biokar France). Στην συνέχεια έγινε επώαση στους 37°C για 24-48h. Ο σχηματισμός αποικιών με άλω είναι ύποπτες.



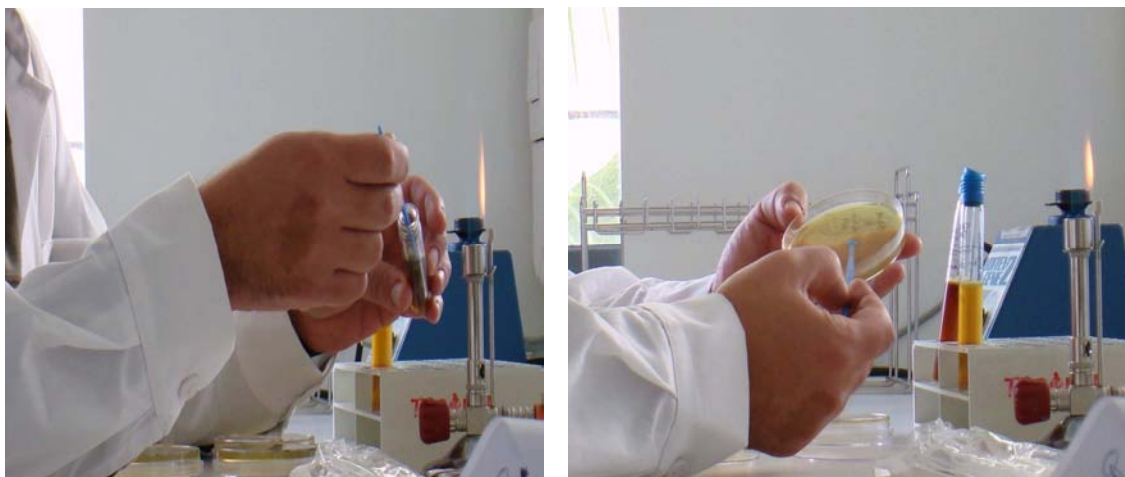
Εικ.21 Petri με ΑΛΟΑ μετά την επώαση.

Κατόπιν έγινε test καταλάσης με μια ύποπτη αποικία. Τοποθετήθηκε η αποικία σε αντικειμενοφόρο πλάκα και προστέθηκε μία (1) σταγόνα οξυζενέ. Δεν παρατηρήθηκε ο σχηματισμός φυσαλίδων οπότε το test ήταν αρνητικό (θα ήταν θετικό εάν είχαν σχηματιστεί φυσαλίδες). Δεν έγινε βιοχημικό test λόγω του αρνητικού αποτελέσματος του test καταλάσης.

2.B5. Ανίχνευση της *Salmonella spp*

Η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε για την διαπίστωση της ύπαρξης *Salmonella spp* στηρίχτηκε στο ISO 6579:2002 (ΕΛΟΤ 2002) & το βιοχημικό test (Microgen) στις οξειδάση θετικές αποικίες που αναπτύχθηκαν σε υποστρώματα XLD Agar (Merck Germany) και Rambach Agar (Merck Germany).

Από κάθε ψάρι λήφθηκε ένα δείγμα σάρκας και δέρματος 25g το οποίο τοποθετήθηκε σε σακούλα stomacher, η οποία περιείχε 225ml διαλύματος Buffered Peptone Water (AES France) ώστε να επιτευχθεί μια αρχική αραίωση 1:10. Τα δείγματα ομογενοποιήθηκαν στη συσκευή stomacher για 2 λεπτά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Οι σακούλες μετά την ομογενοποίηση επωάστηκαν στους 37°C για 18h. Μετά την πάροδο των 18h έγινε λήψη 0,1ml εναιωρήματος και ενοφθαλμισμός του σε σωλήνα με 10ml υπόστρωμα Rappaport- Vassiliadis (RV) (Biomerieux France).



Εικ.22 & 23 Σπορά σε petri.

Επίσης, έγινε λήψη 1ml εναιωρήματος και ενοφθαλμισμός του σε σωλήνα με 10ml υπόστρωμα Muller-Kauffmann tetrathionate/novobiocin broth (MKTTn) (Biomérieux France). Οι σωλήνες επώαστηκαν οι μεν με το Rappaport- Vassiliadis (Biomérieux France) στους 41°C για 24h, οι δε με το Muller-Kauffmann tetrathionate/novobiocin broth (Biomérieux France) στους 37°C για 24h.

Μετά την επώαση έγινε σπορά από τους σωλήνες σε τριβλία petri με XLD agar (Merck Germany) και Rambach agar (Merck Germany). Τα τριβλία επώαστηκαν στους 37°C για 24h.

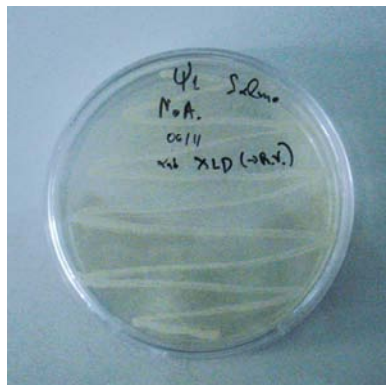


Εικ.24 Petri με Rambach & XLD μετά την επώαση

Από τα τριβλία επελέγησαν οι ύποπτες αποικίες οι οποίες είχαν τον παρακάτω χρωματισμό:

Rappaport- Vassiliadis		Muller-Kauffmann	
↓	↓	↓	↓
XLD	Rambach	XLD	Rambach
↓	↓	↓	↓
άχρωμες αποικίες	φούξια αποικίες	άχρωμες αποικίες	ερυθρές αποικίες
Ροζέ ή μαύρο			
κέντρο			

Από αυτές τις ύποπτες αποικίες έγινε σπορά σε τριβλία με υπόστρωμα Nutrient agar (BD USA). Τα τριβλία στη συνέχεια επωάστηκαν στους 37°C για 24h.



Εικ.25 Petri με Nutrient Agar μετά την επώαση.

Από τις αποικίες που αναπτύχθηκαν έγινε σε μεμονωμένες test οξειδάσης (τοποθετώντας την αποικία επάνω σε έτοιμα sticks) (Merck Germany). Το test οξειδάσης είναι θετικό (υπάρχει *salmonella*) όταν το stick μετά από λίγα

δευτερόλεπτα γίνει σκουρόχρωμο και αρνητικό (δεν υπάρχει *salmonella*) όταν παραμείνει ανοιχτόχρωμο.



Εικ.26 Test οξειδάσης.

Όλα τα test ήταν αρνητικά εκτός από ένα. Στο δείγμα που ήταν οξειδάση θετικό στη συνέχεια έγινε βιοχημικό test (Microgen™ – ID System).



Εικ.27 Μικροκυψέλες βιοχημικού test.

2.B6. Ανίχνευση και απαρίθμηση των πηκτάση θετικών Σταφυλόκοκκων (*Staphylococcus aureus*)

Η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε για την διαπίστωση της ύπαρξης *Staphylococcus aureus* στηρίχτηκε στο ISO 6888-2:1999 (ΕΛΟΤ 1999) στους πηκτάση - θετικούς σταφυλόκοκκους που αναπτύχθηκαν σε υπόστρωμα Rabbit Plasma Fibrinogen (άγαρ ινωδογόνου πλάσματος κουνελιού) (Oxoid England). Η διάρκεια της διαδικασίας ανίχνευσης και απαρίθμησης του *Staphylococcus aureus* ήταν δύο (2) ημέρες για κάθε δειγματοληψία.

Από κάθε ψάρι πάρθηκε ένα δείγμα σάρκας και δέρματος 10g το οποίο τοποθετήθηκε σε σακκούλα stomacher, η οποία περιείχε 90ml αραιωτικό διάλυμα Peptone Salt (AES France) ώστε να επιτευχθεί μια αρχική αραιώση 1:10. Τα δείγματα ομογενοποιήθηκαν στη συσκευή stomacher για 2 λεπτά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Ακολούθησαν διαδοχικές δεκαδικές αραιώσεις σε στείρο διάλυμα Peptone Salt (AES France) (9ml σε κάθε σωλήνα αραιώσης) μέχρι αραιώση 10^{-4} .



Εικ. 28 Διαδικασία αραιώσεων

Στη συνέχεια έγινε ενσωμάτωση με θρεπτικό υπόστρωμα Rabbit Plasma Fibrinogen (RPF) (Oxoid England). Κατόπιν τα τριβλία επωάστηκαν στους 37°C

για 24-48h. Δεν αναπτύχθηκαν ύποπτες αποικίες (μαύρες γυαλιστερές με άλω καθίζησης), οπότε δεν ανιχνεύτηκε *S.aureus*.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ

ΤΡΙΤΟ

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

3.1. Αποτελέσματα και Συζήτηση

3.1.1. Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα

Οι πληθυσμοί της Ο.Μ.Χ. στα δείγματα τσιπούρας και λαυρακιού που εξετάστηκαν παρουσιάζονται στους πίνακες 5 και 6, αντίστοιχα. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μικροβιολογικής εξέτασης, οι πληθυσμοί της Ο.Μ.Χ. σε όλα τα δείγματα τσιπούρας και λαυρακιού κυμάνθηκαν από 3×10^2 έως 6×10^2 cfu/g. Οι μέσοι όροι των πληθυσμών της Ο.Μ.Χ. ήταν $4,48 \pm 1,08 \times 10^2$ και $4,28 \pm 0,936 \times 10^2$ cfu/g για τα δείγματα τσιπούρας και λαυρακιού, αντίστοιχα.

Η Ο.Μ.Χ. χρησιμοποιείται συχνά ως μικροβιακός δείκτης ποιότητας των αλιευμάτων (Pao et al 2008). Το προτεινόμενο όριο της International Commission on Microbiological Specifications for Foods για την Ο.Μ.Χ. στα νωπά ψάρια είναι 5×10^5 cfu/g (ICMSF 1986), ενώ πληθυσμοί 10^7 cfu/g για την Ο.Μ.Χ. θεωρούνται ως το ανώτατο όριο αποδοχής στα αλιεύματα (Olafsdottir et al 1997). Με βάση τα παραπάνω, τα δείγματα τσιπούρας και λαυρακιού που εξετάστηκαν στην παρούσα μελέτη ήταν μέσα στα όρια καλής ποιότητας για τα νωπά αλιεύματα. Σε συμφωνία με τα αποτελέσματά μας οι Cakli et al (2006) αναφέρουν πληθυσμούς Ο.Μ.Χ. σε δείγματα τσιπούρας $3,83 \pm 0,08$ και $4,80 \pm 0,14$ log cfu/g την 1^η και 5^η ημέρα μετά την αλίευσή τους κατά τη συντήρησή τους σε πάγο. Στην ίδια μελέτη, σε δείγματα λαυρακιού αναφέρονται πληθυσμοί Ο.Μ.Χ. $3,92 \pm 0,06$ log cfu/g και $4,54 \pm 0,34$ log cfu/g την 1^η και 5^η ημέρα μετά την αλίευσή τους κατά τη συντήρηση σε πάγο. Επίσης, οι Cakli et al (2007) αναφέρουν πληθυσμούς για την Ο.Μ.Χ. $2,61 \pm 0,12$ log cfu/g και $2,78 \pm 0,02$ log cfu/g, σε τσιπούρες και λαυράκια την 1^η ημέρα μετά την αλίευσή τους.

Πίνακας 5. Πληθυσμοί της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας στα δείγματα τσιπούρας.

Αριθμός δείγματος	Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (cfu/g)
1	5×10^2
2	3×10^2
3	5×10^2
4	6×10^2
5	3×10^2
6	4×10^2
7	4×10^2
8	4×10^2
9	5×10^2
10	4×10^2
11	5×10^2
12	5×10^2
13	6×10^2
14	5×10^2
15	3×10^2
16	3×10^2
17	3×10^2
18	4×10^2
19	5×10^2
20	4×10^2
21	5×10^2
22	6×10^2
23	6×10^2
24	6×10^2
25	3×10^2

Πίνακας 6. Πληθυσμοί της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας στα δείγματα λαυρακιού.

Αριθμός δείγματος	Ολική Μεσόφιλη Χλωρίδα (cfu/g)
1	5×10^2
2	6×10^2
3	6×10^2
4	3×10^2
5	3×10^2
6	3×10^2
7	3×10^2
8	4×10^2
9	5×10^2
10	4×10^2
11	5×10^2
12	5×10^2
13	3×10^2
14	4×10^2
15	3×10^2
16	4×10^2
17	4×10^2
18	5×10^2
19	4×10^2
20	5×10^2
21	5×10^2
22	5×10^2
23	4×10^2
24	5×10^2
25	4×10^2

3.1.2. Ψυχρόφιλα βακτήρια

Οι πληθυσμοί των ψυχρόφιλων βακτηρίων στα δείγματα τσιπούρας και λαυρακιού που εξετάστηκαν παρουσιάζονται στους πίνακες 7 και 8, αντίστοιχα.

Σε όλα τα δείγματα τσιπούρας οι πληθυσμοί των ψυχρόφιλων κυμάνθηκαν από 4×10^3 cfu/g έως 7×10^3 cfu/g με μέσο όρο $5,48 \pm 0,714 \times 10^3$ cfu/g για τα 25 δείγματα. Ανάλογους πληθυσμούς σε τσιπούρες 1 ημέρα μετά την αλίευσή τους ($3,83 \pm 0,08$ log cfu/g) αναφέρουν οι Cakli et al (2006).

Αντίστοιχα, για τα δείγματα λαυρακιού οι πληθυσμοί των ψυχρόφιλων κυμάνθηκαν από $2,8 \times 10^4$ cfu/g έως $3,2 \times 10^4$ cfu/g με μέσο όρο $3,04 \pm 1,003 \times 10^4$ cfu/g για τα 25 δείγματα. Οι Cakli et al. (2007) αναφέρουν χαμηλότερους πληθυσμούς για τα ψυχρόφιλα βακτήρια ($2,47 \pm 0,06$ log cfu/g) σε σχέση με την παρούσα μελέτη σε λαυράκια που εξετάστηκαν μια ημέρα μετά την αλίευσή τους. Αντίθετα, οι Pao et al (2008) σε δείγματα αλιευμάτων από καταστήματα λιανικής πώλησης που εξετάστηκαν αναφέρουν πληθυσμούς ψυχρόφιλων βακτηρίων υψηλότερους από την έρευνα μας. Έτσι, τα αποτελέσματά σε αυτή τη μελέτη έδειξαν πληθυσμούς για τα ψυχρόφιλα $6,4 \pm 0,3$ log cfu/g και $6,3 \pm 0,3$ log cfu/g για δείγματα σολομού και πέστροφας, αντίστοιχα.

Πίνακας 7. Αποτελέσματα μετρήσεων για τα ψυχρόφιλα βακτήρια σε τσιπούρες.

Αριθμός δείγματος	Ψυχρόφιλα (cfu/g)
1	5×10^3
2	7×10^3
3	5×10^3
4	5×10^3
5	6×10^3
6	4×10^3
7	6×10^3
8	5×10^3
9	6×10^3
10	6×10^3
11	7×10^3
12	5×10^3
13	5×10^3
14	5×10^3
15	5×10^3
16	6×10^3
17	5×10^3
18	6×10^3
19	6×10^3
20	6×10^3
21	5×10^3
22	5×10^3
23	5×10^3
24	5×10^3
25	6×10^3

Πίνακας 8. Αποτελέσματα μετρήσεων για τα ψυχρόφιλα βακτήρια σε λαυράκια (cfu/gr).

Αριθμός δείγματος	Ψυχρόφιλα (cfu/g)
1	$3,2 \times 10^4$
2	$2,8 \times 10^4$
3	$2,9 \times 10^4$
4	3×10^4
5	$3,1 \times 10^4$
6	3×10^4
7	$2,9 \times 10^4$
8	$2,9 \times 10^4$
9	$3,1 \times 10^4$
10	$3,1 \times 10^4$
11	$3,1 \times 10^4$
12	$3,1 \times 10^4$
13	3×10^4
14	3×10^4
15	3×10^4
16	$3,1 \times 10^4$
17	$3,2 \times 10^4$
18	$3,1 \times 10^4$
19	$3,2 \times 10^4$
20	$3,1 \times 10^4$
21	$3,1 \times 10^4$
22	$3,1 \times 10^4$
23	3×10^4
24	3×10^4
25	3×10^4

3.1.3. Enterobacteriaceae

Οι πληθυσμοί των *Enterobacteriaceae* στα δείγματα τσιπούρας και λαυρακιού που εξετάστηκαν παρουσιάζονται στους πίνακες 9 και 10, αντίστοιχα.

Στα δείγματα τσιπούρας ανιχνεύτηκαν εντεροβακτηριοειδή στο 56% των δειγμάτων (14 στα 25). Στα υπόλοιπα δείγματα (11) οι πληθυσμοί των εντεροβακτηριοειδών ήταν κάτω από το όριο ευαισθησίας της μεθόδου (<10 cfu/g). Οι πληθυσμοί των εντεροβακτηριοειδών στα δείγματα που ανιχνεύτηκαν κυμάνθηκαν από 3×10^2 έως $1,4 \times 10^3$ cfu/g με μέσο όρο $5,57 \pm 2,97 \times 10^2$ cfu/g.

Στα δείγματα λαυρακιού ανιχνεύτηκαν εντεροβακτηριοειδή στο 64% των δειγμάτων (16 στα 25). Στα υπόλοιπα δείγματα (9) οι πληθυσμοί των εντεροβακτηριοειδών ήταν κάτω από το όριο ευαισθησίας της μεθόδου (<10 cfu/g). Οι πληθυσμοί των εντεροβακτηριοειδών στα δείγματα που ανιχνεύτηκαν κυμάνθηκαν από 4×10^2 έως $1,3 \times 10^3$ cfu/g με μέσο όρο $8,25 \pm 3,35 \times 10^2$ cfu/g.

Σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης ο Yacoub (2009) αναφέρει ποσοστό παρουσίας εντεροβακτηριοειδών στο 55,3% από 150 δείγματα νωπών ψαριών που εξετάστηκαν με πληθυσμούς 10^3 έως 4×10^4 cfu/g και συλλέχθηκαν στην περιοχή του Khartoum στην Αιθιοπία. Υψηλότερα ποσοστά αναφέρονται από τους Pao et al (2008), οι οποίοι απομόνωσαν κολοβακτηριοειδή από το 83,6% των 272 δειγμάτων από αλιεύματα από καταστήματα λιανικής πώλησης που εξετάστηκαν.

Πίνακας 9. Αποτελέσματα μετρήσεων των εντεροβακτηριοειδών σε τσιπούρες

Αριθμός δείγματος	Εντεροβακτηριοειδή (cfu/g)
1	-*
2	5×10^2
3	-
4	-
5	3×10^2
6	8×10^2
7	-
8	3×10^2
9	3×10^2
10	7×10^2
11	4×10^2
12	3×10^2
13	-
14	-
15	-
16	-
17	5×10^2
18	5×10^2
19	-
20	5×10^2
21	-
22	-
23	4×10^2
24	$1,3 \times 10^3$
25	10^3

* όπου υπάρχει – δεν ανιχνεύτηκαν εντεροβακτηριοειδή.

Πίνακας 10. Αποτελέσματα μετρήσεων των εντεροβακτηριοειδών σε λαυράκια (cfu/gr).

Αριθμός δείγματος	Εντεροβακτηριοειδή (cfu/g)
1	$1,4 \times 10^3$
2	$1,3 \times 10^3$
3	8×10^2
4	-
5	-
6	5×10^2
7	4×10^2
8	-
9	-
10	5×10^2
11	5×10^2
12	10^3
13	$1,4 \times 10^3$
14	-
15	-
16	-
17	6×10^2
18	8×10^2
19	6×10^2
20	$1,2 \times 10^3$
21	8×10^2
22	-
23	-
24	7×10^2
25	7×10^2

* όπου υπάρχει – δεν ανιχνεύτηκαν εντεροβακτηριοειδή.

3.1.4. *Staphylococcus aureus*

Τα αποτελέσματα της εξέτασης για την παρουσία *Staphylococcus aureus* στη σάρκα στα δείγματα τσιπούρας και λαυρακιού, παρουσιάζονται στους πίνακες 11 και 12, αντίστοιχα.

Ο *S. aureus* δεν ανιχνεύθηκε σε κανένα από τα 25 δείγματα τσιπούρας και 25 δείγματα λαυρακιού από την περιοχή της Αχαΐας που εξετάστηκαν. Σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης οι van de Broek et al (1984) δεν απομόνωσαν *S. aureus* σε κανένα από τα 242 δείγματα νωπών αλιευμάτων από καταστήματα λιανικής πώλησης στην Ολλανδία που εξέτασαν.

Αντίθετα, οι Herrera et al (2006) αναφέρουν παρουσία του βακτηρίου στο 30% από 50 δείγματα νωπών αλιευμάτων που εξέτασαν στην Ισπανία σε ιδιαίτερα χαμηλούς όμως πληθυσμούς ($<10^2$ cfu/g).

Πίνακας 11. Αποτελέσματα μετρήσεων για την παρουσία *S. aureus* σε τσιπούρες

Αριθμός δείγματος	<i>S. aureus</i>
1	Αρνητικό
2	Αρνητικό
3	Αρνητικό
4	Αρνητικό
5	Αρνητικό
6	Αρνητικό
7	Αρνητικό
8	Αρνητικό
9	Αρνητικό
10	Αρνητικό
11	Αρνητικό
12	Αρνητικό
13	Αρνητικό
14	Αρνητικό
15	Αρνητικό
16	Αρνητικό
17	Αρνητικό
18	Αρνητικό
19	Αρνητικό
20	Αρνητικό
21	Αρνητικό
22	Αρνητικό
23	Αρνητικό
24	Αρνητικό
25	Αρνητικό

Πίνακας 12. Αποτελέσματα μετρήσεων για την παρουσία *S. aureus* σε λαυράκια

Αριθμός δείγματος	<i>S. aureus</i>
1	Αρνητικό
2	Αρνητικό
3	Αρνητικό
4	Αρνητικό
5	Αρνητικό
6	Αρνητικό
7	Αρνητικό
8	Αρνητικό
9	Αρνητικό
10	Αρνητικό
11	Αρνητικό
12	Αρνητικό
13	Αρνητικό
14	Αρνητικό
15	Αρνητικό
16	Αρνητικό
17	Αρνητικό
18	Αρνητικό
19	Αρνητικό
20	Αρνητικό
21	Αρνητικό
22	Αρνητικό
23	Αρνητικό
24	Αρνητικό
25	Αρνητικό

3.1.5 *Salmonella* spp

Τα αποτελέσματα της εξέτασης για την παρουσία *Salmonella* spp στη σάρκα στα δείγματα τσιπούρας και λαυρακιού, παρουσιάζονται στους πίνακες 13 και 14, αντίστοιχα.

Η *Salmonella* spp δεν ανιχνεύθηκε σε κανένα από τα 25 δείγματα τσιπούρας και 25 δείγματα λαυρακιού από την περιοχή της Αχαΐας που εξετάστηκαν στην παρούσα μελέτη.

Σε συμφωνία με τα αποτελέσματά μας οι Basti et al (2006) αναφέρουν ότι δεν ανιχνεύτηκε *Salmonella* spp σε κανένα από τα 67 δείγματα ψαριών από την Κασπία θάλασσα που εξετάστηκαν. Ομοίως, οι Pao et al (2008) αναφέρουν ότι δεν απομονώθηκε *Salmonella* spp από 272 δείγματα αλιευμάτων από καταστήματα λιανικής πώλησης που εξετάστηκαν. Τέλος σε έρευνα στον Σαρωνικό κόλπο από τους Παπασταύρου και συν (1988) δεν διαπιστώθηκε η παρουσία *Salmonella* spp σε φρέσκα ψάρια που εξετάστηκαν.

Αντίθετα, ο Yagoub (2009) αναφέρει ότι *Salmonella* spp ανιχνεύθηκε στη σάρκα ψαριών στο 17,4 % από 150 δείγματα που εξετάστηκαν στην περιοχή του Khartum στην Αιθιοπία.

Σε μία περίπτωση ενός λαυρακιού, από το κατάστημα 1 της Πάτρας που έγινε η δειγματοληψία, το test οξειδάσης βγήκε θετικό και στο βιοχημικό test (MicrogenTM– ID System) που πραγματοποιήθηκε απομονώθηκε το βακτήριο *Acinetobacter baumannii*.

Το *Acinetobacter baumannii* είναι ένα παθογόνο Gram (-) βακτήριο για τον άνθρωπο. Εισέρχεται στον ανθρώπινο οργανισμό συνήθως από ανοιχτά τραύματα, καθετήρες και από την αναπνευστική οδό. Περισσότερο ευαίσθητα είναι άτομα σε ανοσοκαταστολή ή χρόνια νοσήματα. Πολλές αναφορές για μόλυνση από *A. baumannii* υπήρξαν μεταξύ των Αμερικανών στρατιωτών που τραυματίστηκαν κατά τη διάρκεια του πολέμου στο Ιράκ, γι' αυτό το λόγο πήρε το υποκοριστικό *Iraqiibacter* (Chong 2007). Η πρώτη επιδημία μεταξύ των Αμερικανών στρατιωτών εμφανίστηκε τον Απρίλιο του 2003 με ποσοστό θνησιμότητας άνω του 75%.

Η ασθένεια μπορεί να προκαλέσει πνευμονία και λοιμώξεις στο ουροποιητικό και το αιμοποιητικό σύστημα (Gerischer 2009). Επίσης, παρουσιάζει σημαντική ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά (Pollack 2010). Το αποτέλεσμα από το βιοχημικό test (MicrogenTM– ID System) φαίνεται στο παρακάτω απόκομμα αποτελεσμάτων ύστερα από την επεξεργασία από το λογισμικό του ηλεκτρονικού υπολογιστή.

Microgen ID GN A Panel

Specimen Details

Lab Ref.:
 Name:
 Specimen Type:
 Source (ward/location):

Date: 10/11/2009

Results Entry

Octal Code: 4503

+ LYS Lysine Decarboxylase	- ORN Ornithine Decarboxylase	- H2S H2S Production
+ GLU Acid from Glucose	- MAN Acid from Mannitol	+ XYL Acid from Xylose
- ONP ONPG	- IND Indole	- UR Urea Hydrolysis
- VP Voges Proskauer	+ CIT Citrate Utilization	+ TDA Tryptophan Decarboxylase

Identification *kinetobacter*

	<i>A.baumannii</i>	<i>P.stuartii</i>	<i>A.haemolyticus</i>	<i>E.coli-inactive</i>	<i>P.alcaligenes</i>
Select ID Choice	Yes	No	No	No	No
Probability	1/2.067	1/1.431.596	1/5.479.370	1/59.273.407	1/10.8
Percent Probability	99,79%	0,14%	0,04%	<0,01%	0,0
Likelihood	0,1%	<0,01%	<0,01%	<0,01%	<0,0
ID Comment	Poor identification	Poor identification	Poor identification	Poor identification	Poor identification
Human Isolate	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Tests against					
Test 1	TDA (0,1%)	LYS (0,1%)	XYL (0,1%)	TDA (0,1%)	LYS
Test 2		IND (98%)	TDA (0,1%)	CIT (1%)	XYL

Εικ.29 Δελτίο αποτελεσμάτων Microgen I.D. (φωτ. Ζώτος Π.)

Πίνακας 13. Αποτελέσματα μετρήσεων για την παρουσία *Salmonella spp* σε τσιπούρες

Αριθμός δείγματος	<i>Salmonella spp</i>
1	Αρνητικό
2	Αρνητικό
3	Αρνητικό
4	Αρνητικό
5	Αρνητικό
6	Αρνητικό
7	Αρνητικό
8	Αρνητικό
9	Αρνητικό
10	Αρνητικό
11	Αρνητικό
12	Αρνητικό
13	Αρνητικό
14	Αρνητικό
15	Αρνητικό
16	Αρνητικό
17	Αρνητικό
18	Αρνητικό
19	Αρνητικό
20	Αρνητικό
21	Αρνητικό
22	Αρνητικό
23	Αρνητικό
24	Αρνητικό
25	Αρνητικό

Πίνακας 14. Αποτελέσματα μετρήσεων για την παρουσία *Salmonella spp* σε λαυράκια

Αριθμός δείγματος	<i>Salmonella spp</i>
1	Αρνητικό
2	Ύποπτο*
3	Αρνητικό
4	Αρνητικό
5	Αρνητικό
6	Αρνητικό
7	Αρνητικό
8	Αρνητικό
9	Αρνητικό
10	Αρνητικό
11	Αρνητικό
12	Αρνητικό
13	Αρνητικό
14	Αρνητικό
15	Αρνητικό
16	Αρνητικό
17	Αρνητικό
18	Αρνητικό
19	Αρνητικό
20	Αρνητικό
21	Αρνητικό
22	Αρνητικό
23	Αρνητικό
24	Αρνητικό
25	Αρνητικό

* Σε αυτό το δείγμα λαυρακιού το test οξειδάσης βγήκε θετικό και αφού έγινε βιοχημικό test (Microgen™– ID System) απομονώθηκε το βακτήριο *Acinetobacter baumannii*.

3.1.6. *Listeria monocytogenes*

Τα αποτελέσματα της εξέτασης για την παρουσία *Listeria monocytogenes* στη σάρκα στα δείγματα τσιπούρας και λαυρακιού, παρουσιάζονται στους πίνακες 15 και 16, αντίστοιχα.

Η *L. monocytogenes* δεν ανιχνεύθηκε σε κανένα από τα 25 δείγματα τσιπούρας και 25 δείγματα λαυρακιού από την περιοχή της Αχαΐας που εξετάστηκαν στην παρούσα μελέτη.

Σε συμφωνία με τα αποτελέσματά μας οι Παπαδόπουλος και συν (2010) αναφέρουν ότι δεν ανιχνεύτηκε *L. monocytogenes* σε 136 δείγματα ψαριών από καταστήματα λιανικής πώλησης σε 3 πόλεις της Βορείου Ελλάδας. Χαμηλά ποσοστά απομόνωσης του παθογόνου (1%) αναφέρονται από τους Soultos et al (2007) και Παπαδοπούλου και συν (2007) σε δείγματα ψαριών από την Ελλάδα που εξετάστηκαν. Επίσης, οι Basti et al (2006) αναφέρουν ότι η *L. monocytogenes* ανιχνεύτηκε σε ποσοστό 2,6% από τα 67 δείγματα νωπών ψαριών από την Κασπία θάλασσα που εξετάστηκαν.

Αντίθετα, οι Pao et al (2008) απομόνωσαν το παθογόνο *L. monocytogenes* στο 9,3% από 272 δείγματα αλιευμάτων από καταστήματα λιανικής πώλησης στις Η.Π.Α., που εξετάστηκαν.

Πίνακας 15. Αποτελέσματα για την παρουσία *Listeria monocytogenes* σε τσιπούρες

Αριθμός δείγματος	<i>Listeria monocytogenes</i>
1	Αρνητικό
2	Αρνητικό
3	Αρνητικό
4	Αρνητικό
5	Αρνητικό
6	Αρνητικό
7	Αρνητικό
8	Αρνητικό
9	Αρνητικό
10	Αρνητικό
11	Αρνητικό
12	Αρνητικό
13	Αρνητικό
14	Αρνητικό
15	Αρνητικό
16	Αρνητικό
17	Αρνητικό
18	Αρνητικό
19	Αρνητικό
20	Αρνητικό
21	Αρνητικό
22	Αρνητικό
23	Αρνητικό
24	Αρνητικό
25	Αρνητικό

Πίνακας 16. Αποτελέσματα για την παρουσία *Listeria monocytogenes* σε λαυράκια

Αριθμός δείγματος	<i>Listeria monocytogenes</i>
1	Αρνητικό
2	Αρνητικό
3	Αρνητικό
4	Αρνητικό
5	Αρνητικό
6	Αρνητικό
7	Αρνητικό
8	Αρνητικό
9	Αρνητικό
10	Αρνητικό
11	Αρνητικό
12	Αρνητικό
13	Αρνητικό
14	Αρνητικό
15	Αρνητικό
16	Αρνητικό
17	Αρνητικό
18	Αρνητικό
19	Αρνητικό
20	Αρνητικό
21	Αρνητικό
22	Αρνητικό
23	Αρνητικό
24	Αρνητικό
25	Αρνητικό

3.2.Συμπεράσματα

Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκε η υγιεινή κατάσταση στα εκτρεφόμενα είδη τσιπούρας και λαυρακιού που διατίθενται στα καταστήματα πώλησης της ευρύτερης περιοχής του Νομού Αχαΐας. Για το σκοπό αυτό εξετάστηκαν 25 δείγματα τσιπούρας και 25 δείγματα λαυρακιού όσον αφορά την Ο.Μ.Χ., τα ψυχρόφιλα βακτήρια, τα εντεροβακτηριοειδή και τους παθογόνους μικροοργανισμούς *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp και *Listeria monocytogenes*.

- οι πληθυσμοί της Ο.Μ.Χ. σε όλα τα δείγματα τσιπούρας και λαυρακιού κυμάνθηκαν από 3×10^2 έως 6×10^2 cfu/g. Οι μέσοι όροι των πληθυσμών της Ο.Μ.Χ. ήταν $4,48 \pm 1,08 \times 10^2$ και $4,28 \pm 0,936 \times 10^2$ cfu/g για τα δείγματα τσιπούρας και λαυρακιού, αντίστοιχα. Το προτεινόμενο όριο της International Commission on Microbiological Specifications for Foods για την Ο.Μ.Χ. στα νωπά ψάρια είναι 5×10^5 cfu/g, ενώ πληθυσμοί 10^7 cfu/g για την Ο.Μ.Χ. θεωρούνται ως το ανώτατο όριο αποδοχής στα αλιεύματα. Με βάση τα παραπάνω, τα δείγματα τσιπούρας και λαυρακιού που εξετάστηκαν στην παρούσα μελέτη ήταν μέσα στα όρια καλής ποιότητας όσον αφορά την Ο.Μ.Χ. για τα νωπά αλιεύματα.
- Σε όλα τα δείγματα τσιπούρας οι πληθυσμοί των ψυχρόφιλων βακτηρίων κυμάνθηκαν από 4×10^3 cfu/g έως 7×10^3 cfu/g με μέσο όρο $5,48 \pm 0,714 \times 10^3$ cfu/g για τα 25 δείγματα. Αντίστοιχα, για τα δείγματα λαυρακιού οι πληθυσμοί των ψυχρόφιλων κυμάνθηκαν από $2,8 \times 10^4$ cfu/g έως $3,2 \times 10^4$ cfu/g με μέσο όρο $3,04 \pm 1,003 \times 10^4$ cfu/g για τα 25 δείγματα.
- Στα δείγματα τσιπούρας ανιχνεύτηκαν εντεροβακτηριοειδή στο 56% των δειγμάτων (14 στα 25). Στα υπόλοιπα δείγματα (11) οι πληθυσμοί των εντεροβακτηριοειδών ήταν κάτω από το όριο ευαισθησίας της μεθόδου (<10 cfu/g). Οι πληθυσμοί των εντεροβακτηριοειδών στα δείγματα που ανιχνεύτηκαν κυμάνθηκαν από 3×10^2 έως $1,4 \times 10^3$ cfu/g με μέσο όρο $5,57 \pm 2,97 \times 10^2$ cfu/g. Στα δείγματα λαυρακιού ανιχνεύτηκαν εντεροβακτηριοειδή στο 64% των δειγμάτων (16 στα 25). Στα υπόλοιπα δείγματα (9) οι πληθυσμοί των εντεροβακτηριοειδών ήταν κάτω από το όριο ευαισθησίας

της μεθόδου (<10 cfu/g). Οι πληθυσμοί των εντεροβακτηριοειδών στα δείγματα που ανιχνεύτηκαν κυμάνθηκαν από 4×10^2 έως $1,3 \times 10^3$ cfu/g με μέσο όρο $8,25 \pm 3,35 \times 10^2$ cfu/g.

- Ο *S. aureus*, η *Salmonella* spp και η *Listeria monocytogenes* δεν ανιχνεύθηκαν σε κανένα από τα 25 δείγματα τσιπούρας και 25 δείγματα λαυρακιού από την περιοχή της Αχαΐας που εξετάστηκαν.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξενόγλωσση Βιβλιογραφία

Anavella G.H. (2001) Methods in Biotechnology–Food Microbiology Protocols. Humana Press Inc., Totowa, NJ.

Archer and Young (1988) Contemporary issues: Diseases with a food vector. Clinical Microbiology Review, 1: 377 – 398.

Autio T., Hielm S., Miettinen M., Sjoberg A.M., Aarnisalo K., Bjorkroth J., Mattila Sandholm T., Korkeala H. (1999) Sources of *Listeria monocytogenes* contamination in a cold –smoked rainbow trout processing plant detected by pulsed-field gel electrophoresis typing. Applied & Environmental Microbiology. Department of Food and Environmental Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Helsinki, Helsinki, Finland.

Ayulo A.M.R., Machado R.A. & Scussel V.M. (2002) Laboratorio de Microbiologia. Instituto Tecnológico Pesquero AP 10-0360, Callao.

Bardach J., Ryther J., McLarney W. (1973) Aquaculture. The Farming and Husbandry of Freshwater and Marine Organisms. Science Editions, New York, USA.

Basti A.A., Misaghi A., Salehi T.Z., Kamkar A. (2006) Bacterial pathogens in fresh, smoked and salted Iranian fish. *Food Control*, 17:183-188.

Cakli S., Kilinc B., Cadun A., Dincer T., Tolasa S. (2006) Comparison of effects of slurry ice and flake ice pretreatments on the quality of aquacultured sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored at 4 °C. Ege University, Fisheries Faculty Fish Processing Technology Department, Izmir, Turkey.

Campbell A.C. (1982) The Hamlyn Guide to the Flora and Fauna of the Mediterranean Sea. The Hamlyn Publishing Group Limited, Toronto, Canada.

Chong J.R. (2007) The path of war sets doctors on the warpath of disease. Napa Valley Register, on-line edition.

Civera T., Parisi E., Amerio G. P & Giaccone (1995) Self-life of vacuum-packed smoked salmon, microbiological and chemical changes during storage. *Archiv fur Lebensmittelhygiene*, 46 (1-24).

D'Aoust J.Y. (1989) *Salmonella*. In *Foodborne Bacterial Pathogens*. Edition MP Doyle. Marcel Dekker Inc., 327-445, New York.

Departamento de Ciencia e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciencias Agrarias, Universidade Fede, Brasil.

Europarlament – Committee on Fisheries (2002) *Aquacultures in the European Union: Present and Future*. 2002/2008 INI, Rapporteur H. Martin, Report.

European Community (1999) Opinion of the Scientific Committee on Veterinary Measures Relating to Public Health on *Listeria monocytogenes*, 23 September 1999. European Commission, Health & Consumer Protection Directorate-General (SANCO).

European Food Safety Authority (2004) Report on Zoonoses, Zoonotic Agents and Antimicrobial Resistance in the European Union.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) (2005) *Aquaculture production, 2003. Year book of Fishery Statistics*. Food and Agriculture organization of the United Nations, Rome, Italy.

Food and Drug Administration/ Food Safety and Inspection Service (2001) Draft Assessment of the relative risk to public health from foodborne *Listeria monocytogenes* among selected categories of ready-to-eat foods. Center for Food Safety and Applied Nutrition (FDA) and Food Safety Inspection Service (USDA), USA.

Gerischer U. (2009) *Acinetobacter Molecular Biology*. 1st edition, Caister Academic Press, Norwich, UK.

Gilbert J. de Louvois, Donovan T., Little C., Nye K., Ribeiro C.D., Richards J., Roberts D., Bolton F.J. (2000) Guidelines for the microbiological quality of some ready to eat foods sampled at the point of sale. Working group of the Public Health Leadership Society-Advisory Committee for Food and Dairy Products, London.

Gounot A.M. (1986) Psychrophilic and psychrotrophic microorganisms. F-69622 Villeurbanne Cedex, France.

Hasegawa H. (1987) Laboratory manual of analytical methods and procedures for fish and fish products. Marine Fisheries Research Department, Southeast Asian Fisheries Developments Center, Singapore.

Ho J.L., Shands K.N., Friedland G., Eckind P., Faster D.W. (1986) An outbreak of type 4b *Listeria monocytogenes* infection involving patients from eight Boston hospitals. Archives of Internal Medicine, 146,520-524, The George Washington University, Washington DC, USA.

International Commission on Microbiological Specifications for Foods (1986) Microorganisms in foods. 2. Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications. 2nd Edition, University of Toronto Press, Toronto, Canada.

International Organization for Standardization 17410:2001 Microbiology of food and animal feeding stuffs--Horizontal method for the enumeration of psychrotrophic microorganisms.

International Organization for Standardization 21528-2004 Microbiology of food and animal feeding stuffs--Horizontal methods for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae--Part 1 & 2.

International Organization for Standardization 11290-1:1996 Microbiology of food and animal feeding stuffs--Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*--Part 1: Detection method.

International Organization for Standardization ISO 11290-2:1998 Microbiology of food and animal feeding stuffs--Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*--Part 2: Enumeration method.

International Organization for Standardization ISO 6579:2002 Microbiology of food and animal feeding stuffs--Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.

International Organization for Standardization ISO 6888-2:1999 Microbiology of food and animal feeding stuffs--Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species)--Part 2: Technique using rabbit plasma fibrinogen agar medium

Jemmi T., Keusch A. (1994) Occurrence of *Listeria monocytogenes* in fresh water fish farms and fish smoking plants. *International Journal of Food Microbiology*.

Johansson T., Rantala L., Palmu L., Honkanen-Buzalski T. (1999) Occurrence & typing of *Listeria monocytogenes* strains in retail vacuum-packed fish products and in production plant. *International Journal of Food Microbiology*.

Le Loir Y., Baron F., Gautier M. (2003) *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetic and Molecular Research*, 2, 63-76, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes, Institut Nationale de la Recherche Agronomique, Rennes, France.

Lindberg A.M., Ljungh Å., Ahrné S., Löfdahl S., Molin G. (1998) *Enterobacteriaceae* found in high numbers in fish, minced meat and pasteurised milk or cream and the presence of toxin encoding genes. Laboratory of Food Hygiene-Department of Food Technology-Department of Medical Microbiology Lund University, Lund, Sweden-Swedish Institute for Infectious Disease Control, Stockholm, Sweden.

Lou Y. and Yousef A.E. (1999) Characteristic of *L. monocytogenes* important to food processors. In *Listeria, Listeriosis and Food Safety*. Editions Raser ET and Marth EH, Marcel Dekker Inc. 131-224, New York.

Mead P.S., Slutsker L., Dietz V., McCaig L.F., Bresee J.S., Shapiro C., Griffin P.M., Tauxe R.V. (1999) Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Diseases*. 5, 607-625, Division of Bacterial and Mycotic Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, USA.

Nyfeld A. (1929) Etiologie de la mononuclease infectieuse. *Comptes Rendus des séances de la Société de Biologie*, 101, 590-592, France.

Olafsdottir G., Martinsdottir E., Oehlenschläger J., Dalgaard P., Jensen B., Undeland I., Mackie I., Heneham G., Nielsen J., Nielsen H. (1997) Methods to evaluate fish freshness in research and industry. *Trends Food Science Technology*, 8:258–265.

Paleari M.A., Soncini G. & Berreta G. (1990) Smoked tuna, sliced and vacuum packed a relatively new product. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 190, 118 – 120, Istituto Ispezione degli Alimenti di Origine Animale, Università, Milano, Italy.

Pao S., Ettinger M.R., Khalib M.F., Reid A.O., Nerrie B.L. (2008) Microbial Quality of Raw Aquacultured Fish Fillets Procured from Internet and Local Retail Markets. *Journal of Food Protection*, 71:1544-1549.

Papadopoulos T., Abraham A., Sergelidis D., Kirkoudis I., Bitchava K. (2010) Prevalence of *Listeria* spp. in freshwater fish (*Oncorhynchus mykiss* and *Carassius gibelio*) and the environment of fish markets in Northern Greece. *Journal of Hellenic Veterinary Society*.

Papadopoulou C., Economou E., Zakas G., Salamoura C., Dontorou C., Apostolou J. (2007) Microbiological and pathogenic contaminants of seafood in Greece. *Journal of Food Quality*, Ioannina, Greece.

Pollack Andrew (2010) Rising Threat of Infections Unfazed by Antibiotics New York Times, USA.

Santoro A., Sarli T.A., Murru N., Pepe T., Miranda E. & Cortesi M. L. (1996) Controlli su tre lotti di salmone affumicato confezionato sottovuoto nel corso dello stoccaggio a +2 e +12 °C. *IL PESCE*, 1/96 : 77-83.

Schmitt M., Schuler-Schmid U., Schmidt-Lorenz W. (1990) Temperature limits of growth, TNase and enterotoxin production of *Staphylococcus aureus* strains isolated from foods. *International Journal of Food Microbiology*, 11, 1-19.

Shahamat M., Seaman A., Woodbine M. (1980) Survival of *Listeria monocytogenes* in high salt concentrations. *Zentbl Bakteriologie Hygiene Abt 1 Orig A.* , 246, 506-511.

Stirling Institute of Aquaculture (2004) Study of the market for aquaculture produced lubina y dorada species. Report to the European Commission, DG Fisheries.

Soultos N., Abraham A., Papageorgiou K., Steris V. (2007) Incidence of *Listeria spp* in fish & environment of fish markets in Northern Greece. Food Control, Thessaloniki, Greece.

Summary of Notifiable Diseases (1996) Morbidity and Mortality Weekly Report 44 (53), USA.

World Health Organization/ Food and Agriculture Organization of the United Nations (2004) Risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready to eat foods. Interpretative Summary, 8.

Yagoub S.O. (2009) Isolation of *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas spp* from raw fish sold in fish market in Khartoum state. *Journal of Bacteriology Research*, 1:85-88.

Ελληνόγλωσση Βιβλιογραφία

Αλεξανδρόπουλος Θ. (1993) Θέματα Υγιεινής Τροφίμων & Διατροφής. Εκδόσεις ΙΩΝ, Αθήνα.

Αμπραχίμ Α. (2006) Υγιεινή των Αλιευμάτων. Θεσσαλονίκη.

Αρβανιτογιάννης Ι., Σάνδρου Δ., Κούρτης Λ. (2001) Ασφάλεια Τροφίμων. Εφαρμογή της Ανάλυσης Επικινδυνότητας και Κρίσιμων Σημείων Ελέγχου (HACCP) Στις Βιομηχανίες Τροφίμων και Ποτών. University Studio Press, Θεσσαλονίκη.

Βαρελτζής Κ. (1999) Ποιοτικός Έλεγχος & Τεχνολογία Αλιευμάτων. Σύγχρονη Παιδεία, Θεσσαλονίκη.

Βασιλειάδου Σ. (2003) Τεχνολογία και ποιοτικός έλεγχος αλιευμάτων. Σημειώσεις θεωρίας του τμήματος Αλιείας και Υδατοκαλλιεργειών. Τ.Ε.Ι. Θεσσαλονίκης, παράρτημα Ν. Μουδανιών.

Διεθνής Οργανισμός Τυποποίησης (2003) ISO 6887:2003 Μικροβιολογία τροφίμων & ζωοτροφών–Προετοιμασία δειγμάτων δοκιμής, αρχικού εναιωρήματος & δεκαδικών αραιώσεων για μικροβιολογική εξέταση–Ειδικοί κανόνες για την προετοιμασία ιχθυηρών και προϊόντων τους. Ελληνικός Οργανισμός Τυποποίησης Α.Ε., Αθήνα.

Διεθνής Οργανισμός Τυποποίησης (2003) ISO 4833:2003 Μικροβιολογία τροφίμων & ζωοτροφών–Οριζόντια μέθοδος για την απαρίθμηση των μικροοργανισμών. Ελληνικός Οργανισμός Τυποποίησης Α.Ε., Αθήνα.

Ελευθεριάδου Α. (2004) Εργαστηριακές σημειώσεις επιθεώρησης κτηνοτροφικής παραγωγής. Εκδοτικό Κέντρο Τ.Ε.Ι. Θεσσαλονίκης, παράρτημα Ν. Μουδανιών.

Ελευθεριάδου Α. (2004) Επιθεώρηση κτηνιατρικής παραγωγής. Εκδοτικό Κέντρο Τ.Ε.Ι. Θεσσαλονίκης, παράρτημα Ν. Μουδανιών.

Ελευθεριάδου Α. (2004) Σημειώσεις στη θεωρία της Ιχθυοτροφίας. Εκδοτικό Κέντρο Τ.Ε.Ι. Θεσσαλονίκης, παράρτημα Ν. Μουδανιών.

Εθνική Στατιστική Υπηρεσία της Ελλάδος (2004) Στατιστικές Θαλάσσιας Αλιείας & Υδατοκαλλιεργειών – Ιχθυοκαλλιεργειών. Αθήνα.

Ινδικό Ινστιτούτο Κτηνιατρικών Ερευνών (1993) Izatnagar-0243122, UP Ινδία, Ινδική Εφημερίδα της Συγκριτικής Μικροβιολογίας, της Ανοσολογίας και Λοιμωδών Νόσων. Ιούλιος-Οκτώβριος 14 (3 & 4): 25-8.

Καλλιανιώτης Α., Γκιταράκος Γ., Κορέντιος Κ., Μαυραγάνης Π., Μόνιος Γ., Παπαδόπουλος Α., Σακάτης Δ., Σπαθάρη Α., Τάσση Σ., Τραγαντζόπουλος Α., Χεριστανίδης Ε., Χρηστίδης Α. (2007-2008) Mediterranean small craft fishery and development. Ευρωπαϊκή Επιτροπή - INTEREG IIIB- ARCHIMED.

Κατσαμποξάκης Κ., Κεχαγιάς Χ., Παπαναστασίου Δ., Χαϊκάλη Μ. (2009) Εισαγωγή στην Τεχνολογία Τροφίμων. Οργανισμών Εκδόσεως Διδακτικού Βιβλίου, Αθήνα.

Πανέτσος Α. (1978) Υγιεινή Τροφίμων Ζωϊκής Προέλευσης. Τόμος Α΄, Θεσσαλονίκη.

Παπαδοπούλου Χ. (2001) Μικροβιολογία Τροφίμων . Θεωρία, Μεθοδολογία & Υγιεινή. Ιωάννινα.

Παπαναστασίου Δ. (1990) Τεχνολογία & Ποιοτικός Έλεγχος Αλιευμάτων. ΙΩΝ, Αθήνα.

Παπασταύρου Α., Δρουδάκης Μ., Ράντσιος Α.Τ. (1998) Συμβολή στη μελέτη της μικροβιακής χλωρίδας των σαρδελών (*Clupea pilchardus*). Δελτίο Ελληνικής Κτηνιατρικής Εταιρείας, Αθήνα.

Σκούντζος Κ.–Γιώτης Α. (1976) Βακτηριολογικός Έλεγχος Τροφίμων Ποτών Ύδατος. Τύποις Αφοί Ανδρέου, Αθήνα.

Σύνδεσμος Ελληνικών Θαλασσοκαλλιέργειών (2009) Στοιχεία παραγωγής 2008, Αθήνα.

Τυρπένου Α. (2008) Ασφαλή Τρόφιμα για τους Ευρωπαίους Καταναλωτές. Περιοδικό της Ελληνικής Κτηνιατρικής Εταιρείας.

Φώτης Γ. (1999) Εκτροφή και Παθολογία Ιχθύων. Σύγχρονη Παιδεία, Θεσσαλονίκη 1999.

Ιστοσελίδες

<http://www.wikipedia.com>.

http://www.efsa.europa.eu/en/publications/annual_reports/1500.html.

<http://www.foodsafety.gov/~dms/lmr2-toc.html>.